Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der Epidermis bei Rattenembryonen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehem.
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang H. Stein
aus Pethau / Kreis Zittau

1970

Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der Epidermis bei Rattenembryonen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehem.
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang H. Stein
aus Pethau / Kreis Zittau

ehem. Dekan : Professor Dr. med. Herbert Lax
Referent : Professor Dr. med.Hans-Joachim Merker
Korreferent : Professor Dr. med. Günter Stüttgen

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der ehem. Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 26.9.197o

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung 1
Material und Methoden 11
Resultate 12
Diskussion 26
Résumée 35
Literaturverzeichnis

Einleitung

Alle epithelialen Anteile der Haut inclusive deren Anhangsgebilde sind Derivate des Ektoderms. Beim Menschen ist bis zum Ende des ersten Monats die Epidermis einschichtig; nur an den Extremitätenknospen bereits mehrschichtig. Am Beginn des zweiten Monats wird die gesamte bislang einschichtige Epidermis zweischichtig. Die dem Mesenchym direkt anliegende Zellage besteht aus kubischen bis runden Zellen, die zweite Lage zunächst aus kubischen später abgeplatteten Zellen. Diese letztere Schicht ist das Periderm (Wolf,1967). Im Laufe des zweiten Monats verliert das Periderm die Fähigkeit zur Mitose. In die Peridermzellen wird eine hornartige Substanz eingelagert, der Zellkern bleibt aber im Gegensatz zum adulten strat. lucidum erhalten (Bonneville 1968). Manche Tierarten behalten das Periderm bis zur Geburt, beim Menschen existiert es nur bis zum Ende des 5. Monats. Dann ist das darunterliegende strat. corneum voll ausgereift. Das Periderm wird dann in grossen Lamellen abgestossen (Wolf 1967,1968).
Bei 3o mm langen Embryonen wird eine dritte Epithelschicht, das strat. intermedium ausgebildet. Diese Zellen bleiben genauso wie das strat. basale teilungsfähig, so dass das strat. germinativum nun aus zwei zur Mitose fähigen Zelllagen besteht.
Im Bereich der Milchleiste, der Haarkeime, des Nagelbettes und im Gesicht treten Keratohyalinkörnchen im dort mehrschichtigen strat. intermedium zuerst auf (Wolf,1968), während die restliche Epidermis im 5. Monat noch keine Anzeichen einer beginnenden Verhornung aufweist. Tonofibrillen werden erst ausgebildet, wenn ein mehrschichtiges Epithel herangewachsen ist.
Das Corium entwickelt sich aus der lateralen Lamelle der mesodermalen Urwirbel (sog. Cutislamelle). Die ausgewanderten Mesenchymzellen vereinigen sich über die Ursegmentgrenzen

hinweg und formen zunächst eine einheitliche subepidermale Schicht. Später bildet sich ein weitmaschiges Zellnetz aus, in dem im 3. Monat erstmalig kollagene Fibrillen sichtbar werden. Die Bindegewebsfibrillen ordnen sich zu parallelen Bündeln an, die ringförmig um den Rumpf herum verlaufen.Unter kubischem Epithel und unter Plattenepithel ist das Corium zellärmer als unter prismatischem Epithel. Strat. papillare und reticulare werden erst gegen Ende der Schwangerschaft herausdifferenziert. Die dermoepidermale Grenze in Form der Basalmembran (lichtmikroskopisch) wird erstmals bei Embryonen von 13,5 cm Länge registriert. Ihre Entwicklung läuft mit der Coriumdifferenzierung parallel.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen dieser Vorgänge beim Menschen waren sehr zu begrüssen, doch stehen der Bearbeitung dieser Probleme ausserordentliche Schwierigkeiten bei der Beschaffung des Untersuchungsmaterials entgegen. Ausserdem sind diese Untersuchungen aber auch als Grundlage für experimentell-embryologische Studien gedacht. Es ist daher notwendig mit Laboratoriumstieren zu arbeiten. Die Entwicklung der Haut soll aus diesem Grunde an einem Rattenstamm dargestellt werden, der in unseren embryonal- pharmakologischen Laboratorien benutzt wird. Die Entwicklung der Rattenepidermis entspricht im Prinzip der beim Menschen geschilderten. Es muss jedoch berücksichtigt werden,dass die Verhältnisse vom Menschen nicht ohne weiteres auf die 21 Tage dauernde intrauterine Entwicklung bei der Ratte übertragen werden dürfen.
Die Ratte ist in viel ausgeprägterem Masse ein Nesthocker und kommt deshalb in relativ unreifem Zustand auf die Welt.

Die spärlichen Angaben, die bisher über die Hautentwicklung bei der Ratte vorliegen, lassen ahnen, dass der Verlust des Periderms erst am Ende der Schwangerschaft eintritt (Bonneville, 1968).

Die Entwicklung des typischen Epithelverbandes der Haut aus dem Ektoderm ist ein ausserordentlicher, komplexer Vorgang. Nach den sehr fruchtbaren Zusammenstellungen von Mercer,1961, Dodson,1967, Mcloughlin,1961 sowie Weiss und Ferris,1956 muss angenommen werden, dass dabei das Epithel durch das darunterliegende Bindegewebe und vice versa beeinflusst wird. Ebenso spielt die Basalmembran an der Grenzschicht beider Gewebe durch die Ausbildung spezieller Adhäsionsverhältnisse eine wichtige Rolle bei der Anlage der Epidermis.
Nur die ungestörte Entwicklung dieser Einflussnahme und der Kontaktverhältnisse führen schliesslich zum funktional brauchbaren Endprodukt des mehrschichtigen verhornten Plattenepithels.
Subepidermales Bindegewebe, Basalmembran und Kontaktverhältnisse müssen deshalb bei der morphologischen Entwicklung der Haut bevorzugt beobachtet werden.
Sowohl die Organbildung allgemein als die Epithelbildung in Form einer kontinuierlichen Oberfläche speziell,erfordern die Herstellung von Kontakten zwischen zusammengehörigen Zellkomplexen.
Voraussetzung für die Bildung und das Fortbestehen solcher Adhäsionsstrukturen ist eine kontinuierliche Zellmembran. Nur vereinzelt wird ein zytoplasmatischer Übergang zwischen benachbarten Zellen in Erwägung gezogen (Eakin et al. 1957). Die Mehrheit der Autoren beschreibt Zellkontakte, die als Differenzierungsprodukte einer das Zytoplasma ununterbrochen umgebenden Zellmebran anzusehen sind.
Im einzelnen handelt es sich bei den Kontakten um folgende Strukturen :

1) Zona adhaerens,2) Zonula occludens (tight junction), 3)Macula occludens (focal tight junction),4)Macula adhaerens (Desmosom),5) close junction, 6)composite desmosome, 7)bobbins, 8) septate desmosome.

Ad 1)(Merker,1964;Ruggeri1967).Je eine Zone von 5o-1oo Å Breite aus Protein und MPS liegt auf den beiden aneinandergrenzenden Zellmembranen. Gesamtzwischenraum zwischen den beiden Membranen somit (2x surface coat)= 2oo Å.

Ad 2)(Trelstad et al. 1967,1966; Fahrquahr et al.1965;Ruggeri, 1967). Aufbau wie Macula occludens (s.u.). Im Unterschied zu jenen ist hier die Strecke, auf der die Zellmembranen ohne Interzellularraum zusammenlaufen weitaus länger. Sie grenzen die Interzellularräume von der Epitheloberfläche ab und verhindern somit die Diffusion von Ionen aus dem Körper hinaus (Schlussleistennetz, Schaffer, 1927).

Ad 3)(Trelstad et al. 1967;Fahrquahr et al.1965). Sie wird auch als minute tight junction bezeichnet. Sie stellen die erste Kontaktform zwischen embryonalen Zellen dar. Die beiden Zellmembranen liegen unmittelbar aneinander. Man findet sie z.B. in embryonalen Epithelien. Da sie für elektrische Ströme passierbar sind, ist es möglich, dass sie ein Weg für die Informationsweitergabe von Zelle zu Zelle sind.

Ad 4)(Parakkal et al. 1964; Overton,1962; Friedmann,1961; Brody,1961;Thomas,1965;Voss et al.1966;Hashimoto et al. 1966;Mottet et al.1968;Schaffer,192o). Intrazytoplasmatisch liegt auf den beiden am Desmosom beteiligten Zellmembranen im Abstand von 125 Å eine elektronendichte Platte. Von ihr gehen Fibrillenbündel ins Zellinnere aus. Interzellulär in der Mitte zwischen beiden Zellmembranen verläuft eine elektronenoptisch dichte Strukturlinie, abgegrenzt zu den Membranen hin durch eine elektronenoptisch durchlässigere Schicht.

Diese Desmosomen findet man im späten Periderm(Wolf,1968)

im Amnionepithel (Thomas,1965), im embryonalen Otozysten (Friedmann, 1961), sowie im adulten Epithel. Auch die Leydigzellen (Schleimzellen der larvalen Amphibien - haut) sind durch Desmosomen in der Epidermis fixiert. (Hay, 1961). Neuerdings werden sie auch für die Keratinsynthese als nötig erachtet (Prunieras, 1968).
Ad 5) close junction (Trelstadt et al. 1967,1966). Beobachtet wurden sie im Hühnerembryo. Sie stellen eine Varia - tion der tight junction dar. Die Entfernung zwischen den beiden Zellmembranen schwankt zwischen 25 und 1oo Å.Sie treten zwischen Epithelzellen und Mesenchymzellen auf.
Ad 6) composite desmosome (Fahrquahr et al. 1965). Sie treten am Übergang zwischen strat. lucidum und strat. granulosum auf. Ersteres besteht aus total keratini - sierten Zellen, bei denen sich intraplasmatisch eine der Zellmembran rundherum anliegende Verdichtungszone ausbildet (Brody, 1959, 196o; Merker, 1964), auch im Bereich der Desmosomalplatte. Die im strat. lucidum gelegene Desmosomhälfte ist somit modifiziert, die im strat. granulosum gelegene normal ausgebildet.
Ad 7) bobbins (Pflugfelder, 1965; Parakkal, 1964; Leeson et al.1961; Kemp, 1961; Selby, 1955; Weiss et al.1954; Weiss, 1958). Sie werden auch Hemidesmosom genannt (Themann, 1968). Dichte granulaartige Körper aus zwei elektronendichten Platten, getrennt durch eine helle Zone, die Fibrillenbündel ins Zytoplasma entsenden. Sie liegen an der basalen Zellmembran.
Ad 8) septate desmosome (Wood, 1959). Variation des Desmosomes bei Hydra. Der Interzellularraum ist durch ein System von parallelen Lamellen (intercellular attachment lamellae) überbrückt, die senkrecht zur Plasmamembran verlaufen. Diese Struktur scheint für eine osmotische Barriere besonders geeignet.

Die Basalmembran ist eine extrazelluläre Schicht, die Epithelzellen, Muskelzellen, Nerven und Blutgefässe vom Bindegewebe abgrenzt (Merker, 1964; Vollrath, 1968). Der Begriff Basalmembran wird von Licht- und Elektronenmikroskopikern für verschiedene Strukturen verwendet. Ersterer versteht darunter eine ca. 0,3 - 0,5 µ (Dodson, 1967) breite subepidermale Schicht, bestehend aus einer fibrillären (Retikulin) (Schmidt,1962; Odland,1950) und einer homogenen PAS- positiven Komponente.
Letzterer bezeichnet mit Basalmembran eine 800-3000 Å dicke Schicht, die nach Kontrastierung mit Phosphorwolframsäure oder Uranylazetat eine feine fibrilläre Struktur aufweist. Man erkennt an ihr eine elektronenoptische dichte lamina densa und je eine obere und untere elektronendurchlässigere Auflageschicht (lamina rara interna et externa).
Die lichtmikroskopische Basalmembran ist schon lange Gegenstand intensiver Forschung (Hoepke,1925; Frieboes, 1920; Herxheimer, 1916), im folgenden beschäftigt uns jedoch nur die elektronenmikroskopische Basalmembran.
An die Zellmembran der basalen Epithelzelle schliesst sich ein elektronenoptisch durchlässiger Raum von ca. 200 Å Breite an, genannt adepidermaler Raum (Salpeter et al. 1959; Porter, 1954; Merker,1964). Hierauf folgt die Basalmembran, die bei Amphibienlarven als Besonderheit, die bei anderen Arten nicht beschrieben ist, eine Lage von Granula enthält (adepidermal reticular network) (Kemp,1959; Singer et al.1956; Weiss et al.1954,1956). Diese Granula sollen für die orthogonale Fibrillenstruktur der larvalen Fibrillenzone (Kemp,1961; Chapman et al.1961; Hay,1961; Voute, 1963; Fahrquahr,1965) verantwortlich sein. Die Untersuchungen an Hühnerembryonen (Mcloughlin,1961; Dodson,1967; Ruggeri, 1967; Klöppel,1969; Mottet, 1968) und bei Menschen bzw. Säugetier (Odland,1958; Selby 1955; Odland,1950; Weiss, 1958; Brody,1960) brachten, abgesehen von einer Variabilität der

Messwerte der einzelnen Autoren, im Vergleich zu den Ergebnissen bei Amphibien keine grundsätzlichen Neuheiten. Wer die Basalmembran bildet, mesenchymale Zellen, d.h. Fibroblasten bzw.deren Vorläufer (Kemp,1961; Mclaughlin, 1961; Klöppel, 1969) oder epitheliale Zellen (Pierce,1964; Themann,1968; Hay, 1962; Low,1967; Fawcett,1958) oder Epithelien und Mesenchymzellen zusammen, ist noch umstritten. Wahrscheinlich stammen sie unter Epithelien vom Epithel und um Kapillaren vom Mesenchym ab (Vollrath,1968). Die Funktionen der Basalmembran sind: 1)Filter für Makromoleküle (Themann,1968) an der Glomerulumkapillare und an Kapillaren allgemein, wobei der Porenradius des B.M.- Fibrillengeflechts bei 35,5 Å liegt (Vollrath,1968). Lipophile Substanzen passieren leichter als hydrophile.
2) Stabilisation der Kapillare und zwar sowohl, was Krafteinwirkung vom Epithellumen (bei Hypertonie ist sie stark verdickt),als auch die Fixierung der Kapillare im zugehörigen Parenchym betrifft (Merker, 1964). 3) Beeinflussung der Ionenverteilung (Voute, 1963; Merker,1964;Weiss,1958) zwischen Epidermisoberfläche und Dermis (Hautpotential).
4) Kopplung der Existenz der B.M. mit dem Auftreten antigener Eigenschaften des zugehörigen Gewebes (Mercer,1961).
5) Verhinderung autonomen Wachstums (Hashimoto,1966; Woods,1969). Speziell bei der Entwicklung embryonaler Organe und der Haut ist die Basalmembran für die spezifische Wachstumsrichtung des Epithels wichtig. Parallel zur Ausdifferenzierung des Epithels geht auch die Entwicklung der Basalmembran voran. Daher muss bei der Beurteilung des Differenzierungsgrades eines Epithels auch die Basalmembran berücksichtigt werden.

Das Bindegewebe besteht laut Definition aus Zellen und Interzellularsubstanz, aufgegliedert in eine fibrilläre Komponente und eine homogene Interfibrillarsubstanz.

Letztere wird von den Fibroblasten gebildet. Man findet in diesen Zellen ein ausgeprägtes rauhes endoplasmatisches Reticulum (E.R.) (Kemp,1961; Porter et al.1959; Weiss et al.1956; Klöppel,1969), in dem Tropokollageneinheiten produziert und an die Zelloberfläche abgegeben werden. Von der Oberfläche werden sie in den subepidermalen Interzellularraum abgegeben, wo ihr Durchmesser durch Absorption eines amorphen interzellulären Materials (ebenfalls aus dem Fibroblasten - E.R.) zunimmt. Die Fibrillendichte und die Anzahl der Fibroblasten sind direkt proportional zueinander (Klöppel,1969).
Weitere Information über die Relation Epidermis - Dermis erhielt man durch Beobachtungen an heilenden Hautwunden (Weiss et al.1956) und in vitro Versuchen (Mcloughlin, 1961; Dodson,1967). Nach Verwundung (Amphibium) bildet sich zuerst die Basalmembran, mit einiger Verzögerung wird von den Fibroblasten das Kollagen des Coriums produziert.
Auch in vitro wird beim Kontakt von vorher isoliertem Epithel mit Mesenchym als erstes innerhalb von 48 Stunden eine Basalmembran gebildet, unabhängig von der Art des Mesenchyms. Die weitere Epitheldifferenzierung wird dagegen ausserordentlich stark vom Mesenchym dirigiert. Dafür sprechen folgende Befunde: Auf Extremitätenknospenmesenchym entwickelt sich ein normal verhornendes Epithel, auf Knorpelmesenchym degeneriert das Epithel, auf Herzmyoblasten bildet sich eine einschichtige Epithellage; auf Herzfibroblasten kommt es zu einer beschleunigten Keratinisation und einer Hemmung der Epithelausbreitung. Nach der Abtrennung des Epithels vom Mesenchym hören die Mitosen im strat.basale sofort auf. Werden Epidermis und Dermis innerhalb von 3o Stunden wieder vereint, entwickelt sich eine normale dermo - epidermale Verbindung.

Die korrekte epidermale Differenzierung ist jedoch nicht an eine lebende komplette Dermis gebunden; auch auf einer dermalen Zellsuspension, einem Kollagengel oder einer gefriergetöteten Dermis entwickelt sich eine regelrechte Epidermis. Bei der gefriergetöteten Dermis kommt es allerdings zu einer in vivo nicht vorhandenen regulären Fibrillenanordnung im Corium; auf dem Kollagengel entspricht auch die Basalmembran nicht völlig den normalen Verhältnissen. Behandelt man die gefriergetötete Dermis mit Trypsin, weisen alle Schichten des Epithels vom strat. basale bis zum strat.lucidum eine Verhornung auf und die Epithelausbreitung ist gehemmt. Die Mesenchymzellen scheinen demnach mittels der Kollagenfibrillen und einer trypsinlabilen Komponente der homogenen Interzellularsubstanz, Einfluss auf die Differenzierung der Epidermis zu nehmen. Diesen Befunden entspricht die Beobachtung von Kallman et al.(1967), die die von Mcloughlin (1961) und Dodson (1967) gefundene Relation zwischen Fibroblasten und Verhornung bestätigen. Kallman und Mitarbeiter beschreiben im Corium von Hühnerembryos gebündelte Fibrillenstränge, die sich von der dermo - epidermalen Grenze dicht unter der Basalmembran bis tief in das Corium hinabsenken (anchor fila - ment bundles). Diese Bündel, an denen sich Fibroblasten aufreihen, finden sich gerade dort, wo sich nach ihrer Rückbildung die Anlage der Feder des Huhnes ausbildet.
Ein wesentlicher Schritt in der embryonalen Differenzierung der Epidermis ist der Ersatz des Periderms durch ein verhornendes Epithel. An der Bildung des strat. corneum (strat. granulosum und lucidum) sind vor allem folgende Zellorganellen beteiligt: Keratohyalingranula (KHG) (Parakkal et.al.1964; Kirschner, 1967; Brody 1959; Prunieras, 1968), Keratinfilamente bzw. als deren Voräufer Tonofilamente (Wessels,1961; Brody,1959; Porter, 1954; Brody,196o),

Ribosomen (Matoltsky,1962; Squier,1968) und membrane coating granules (MCG) (Fahrquahr et al.1965; Hashimoto et al. 1966; Themann,1968; Matoltsky 1965).
Beim Übergang vom strat.basale zum strat spinosum bekommen die Tonofilamente eine fleckige Zeichnung, werden stärker anfärbbar und aggregieren zu Bündeln. Die Anzahl der MCG. nimmt vom strat.basale zum proximalen strat.granulosum zu, dann aber weiter distal wieder ab, da die MCG. ihren Inhalt in den Interzellularraum des strat.corneum entleeren. Vom proximalen zum distalen strat. granulosum nehmen Anzahl und Grösse der KHG zu. Sie treten in enge morphologisch - funktionelle Verbindung zu Tonofilamenten und Ribosomen. Die synergistische Wirkung dieser drei Komponenten führt zur Bildung des Keratins.
Es besteht aus Filamenten (Keratin) und amorpher interfilamentärer Zementsubstanz (stammt aus den KHG). Es ist gegenüber proteolytischen Enzymen resistent, weist vor allem Sulfhydrylgruppen (-SSH) und Disulfidgruppen auf und hat in den unteren Lagen des strat. lucidum eine reguläre fibrilläre Struktur.
Jedoch muss hier genauer differenziert werden. Prinzipiell existieren drei Wege, die zur voll keratinisierten Zelle führen, wobei die Ausgangsprodukte der germinativen Zelle (GZ) unterschiedlich sind:
1) GZ mit zytoplasmatischen Granula → amorphen Keratin (Haarkutikula), 2) GZ mit zytoplasmatischen Filamenten → fibrösem Keratin (kortikale Zelle des Haares), 3)GZ mit zytoplasmatischen Granula und Filamenten ⟶ fibrösem Keratin (Epidermis der Mammalia).
Auf der Grundlage dieser Kenntnisse sollte es möglich sein, die feinstrukturelle Entwicklung der Haut von Ratten morphologisch genau zu verfolgen und auch funktionell zu deuten.

Material und Methoden

Für diese Untersuchungen wurden Ratten eines Wistar - Inzucht - Stammes verwendet (FW 68), die in temperatur- und feuchtigkeitsgeregelten Räumen bei umgekehrtem Tag-Nacht-Rhythmus gehalten wurden. Um die Zeitbestimmung möglichst exakt zu halten, erfolgte die Begattung in der Zeit zwischen 7^{30} und 9^{30} Uhr. Wir verwendeten Rattenweibchen, die um 7^{00} Uhr Zeichen des frühen Östrus beim Vaginalabstrich aufwiesen und nach 9^{30} Uhr spermienpositiv waren. Die folgenden 24 Stunden werden als Tag o bezeichnet.
Folgende Entwicklungsstadien konnten berücksichtigt werden: Tag 9,12,14,15, volle Haut, Tag 18 (Oralmukosa), 18 (Haut) und 4.Tag post partum (Haut).
Die Fixierung erfolgte sofort nach Entnahme der Embryonen in Äthernarkose in einer 3% igen mit o,1 molaren Phosphatpuffer eingestellten (pH = 7,4) Glutaraldehydlösung. Die Fixierungsdauer betrug einige Stunden. Nach dem Waschen in Pufferlösung (15 Minuten) schloss sich eine Nachfixation mit einer 1%igen OsO_4 -lösung in o,1 molaren Phosphatpuffer an. Als Einbettungsmittel verwendeten wir nach Entwässerung in der Acetonreihe Micropal der Firma Ferak, Berlin. Die Schnitte wurden hergestellt am LKB - Microtom und nachkontrastiert mit Uranylacetat und Bleicitrat. Zur Herstellung der Aufnahmen mit einer Primärvergrösserung von 15oo - 3o ooo verwendeten wir Siemens - Elmiskop vom Typ I und Ia mit einer Strahlspannung von 8o kV (Blende 2oo/5o). Die Beurteilung erfolgte auf Papierabzügen, die durchschnittlich 3,5 x nachvergrössert wurden.
Zur besseren Orientierung im Block und zur genauen Lokalisierung stellten wir vor Anfertigung der Dünnschnitte so - genannte Semi - Dickschnitte her (1/2 bis 1 μ).Das mit einer 1%igen wässerigen Giemsa - lösung mit Boraxzusatz nachgefärbte Präparat war im Lichtmikroskop gut zu beurteilen.

RESULTATE:
==========

A) Gesamtepithel

Tag 9 : An diesem ersten Tage unserer Untersuchungen finden wir ein einschichtiges Epithel vor. Die Verzahnung der Zellmembranen benachbarter Zellen ist nur gering ausgeprägt. Die Zellkörper sind ausnahmslos von sehr flacher und langgestreckter Form und sind oberflächenparallel angeordnet. An den Berührungspunkten zwischen Nachbarzellen befinden sich tight junctions und zonae adhaerentes.

Tag 12: Das Epithel ist ein- oder zweischichtig. Im ersten Fall handelt es sich um eine Lage annähernd quaderförmiger Zellen, im zweiten Fall um eine basale Lage quaderförmiger Zellen und einer darüberliegenden Schicht weitaus flacherer Zellen. Zellfortsätze sind nur gering bis mässig ausgebildet.

Tag 14: Das Epithel ist zwei - bis dreischichtig; zuoberst eine Lage sehr flacher gestreckter Zellen, darunter ein bis zwei Lagen ovaler, rechteckiger oder polygonaler Zellen. Die Zellen aller drei Lagen haben viele Protoplasmafortsätze, die sich besonders zahlreich an den Berührungspunkten zwischen benachbarten Zellen ausbilden. An der äusseren peridermalen Oberfläche kommt es zur Ausbildung von Mikrovilli. An der basalen Epithelgrenze liegen zwischen benachbarten Zellen häufig weite Interzellularräume.

Tag 15: Das Epithel ist am späten Tag 15 drei- bis vierschichtig. In diesem Stadium gelingt es nicht mehr, einzelne Zellgrössen oder Zellformen einer bestimmten Epithellage zuzuteilen. Vielmehr ist in allen drei bis vier Lagen die Zellform und -grösse ausserordentlich variabel. Im Vergleich zum vorigen Tag haben sich jedoch alle Zellen mehr abgerundet (Oberflächenverkleinerung), die vielen Fortsätze (des Tages 14) sind weitgehend zurückgebildet. Durchgehende Epithellagen sind nicht vorhanden, sondern bevorzugt ein ausgeprägtes Ineinandergreifen der einzelnen Lagen.

Tag 16: Das Epithel weist mehrere Schichten auf. Auch an diesem Tag enthalten alle Schichten vorwiegend polygonale Zellen. Zellfortsätze sind regelmässig vorhanden, wenn auch nicht so gehäuft wie am Tag 14. Diese Fortsätze ragen auf dem Querschnittbild nur selten in den Interzellularraum hinein und sind unregelmässig auf Kanten und Ecken der polygonalen Epithelzelle verteilt.
Tag 18 (Oralmukosa): Die oberflächliche Epithellage ist abgeplattet, die Zellkerne mit ihrer Längsachse der Oberfläche parallel. Die Berührungsstellen zwischen benachbarten Zellen bestehen aus zahlreichen Protoplasmabrücken, wobei diese weitaus breiter und kompakter sind als allgemeine Protoplasmafortsätze. Gegen die B.M. grenzen die Zellen des strat.germinativum breitbasig aneinander.
Tag 18 (Haut): Das strat.granulosum allein weist an diesem Tage mehrere Lagen auf. Das strat. corneum ist noch nicht ausgeprägt. Das Periderm mit seinem villösen Saum ist deutlich von der obersten Schicht des strat.granulosum abgrenzbar. Es weist nie eine Verhornung auf. An vielen Stellen zeigt sich eine beginnende Ablösung des Periderms. Intrazellulär sind die Peridermzellen fast strukturlos, jedoch sind sie untereinander noch durch Desmosomen verbunden. Unter dem strat.granulosum folgen drei bis vier Lagen des strat.germinativum (strat.spinosum und strat.basilare).
4.Tag post partum: Man erkennt maximal 4 bis 7 Lagen strat.lucidum, ca.4 Lagen strat.granulosum und 2 bis drei Lagen strat.germinativum. Ein Periderm ist nicht mehr vorhanden. Die Epidermisoberfläche wird von sich lamellär abschilfernden Zellagen des strat. lucidum gebildet. Die Zellen aller Schichten weisen bevorzugt eine Längsausdehnung parallel zur Epidermisoberfläche auf. Sind die Zellen des strat,germinativum noch annähernd kubisch, so werden sie zum strat.corneum zunehmend abgeplattet.

B) Interzellularraum und interzelluläre Materie

Tag 9: Es existieren teilweise relativ grosse Interzellularräume. Ein interzelluläres Material granulären Charakters in sehr feiner Verteilung ist vorhanden.

Tag 12: Sowohl im einschichtigen wie auch im zweischichtigen Epithel werden sehr verschiedenartig geformte, teilweise durch Zellfortsätze unterkammerte Interzellularräume gefunden. Diese Räume sind elektronenoptisch überwiegend leer.

Tag 14: Heute sind Interzellularräume von beträchtlicher Ausdehnung aufzufinden, die optisch leer sind. Nur ab und zu ist ein quergeschnittener Zellfortsatz in ihnen sichtbar. Besonders zwischen Periderm und mittlerer Zellage sind die extrazellulären Räume oft grösser als basale Zellen, die hier die grössten aller Zellen darstellen. Die Zellen des strat.basale grenzen nicht immer unmittelbar aneinander (ICR dazwischen).

Tag 15 : Aufgrund des Epithelzellwachstums in allen vier Lagen, sind die ICR relativ verkleinert. Weitgehend liegen die ICR nur noch als schmale Schlitze zwischen den Zellen. Auch Protoplasmafortsätze ragen nur noch selten hinein. In den Übersichtsaufnahmen erscheint der ICR leer. Selten nur zeigt sich granulo - filamentöses Material in diesen Räumen, vor allem im strat.basale.

Tag 16 : Die ICR erscheinen grösser als am späten Tag 15, aber nicht so ausgedehnt wie am Tag 14. Teilweise sind diese Räume optisch leer, teilweise angefüllt mit einem granulo-filamentösen Material von nur schwacher Anfärb - barkeit.

Tag 18 (Oralmukosa): Durch den sehr variationsreichen Verlauf der Zellmembranen an diesem Tag, die kurze Zeit aneinandergrenzen, dann wieder auseinanderweichen, ist der ICR, der von subperidermal bis an die B.M. reicht,in zahlreiche kleine Kompartimente unterteilt.

Vereinzelt erstrecken sich jedoch ICR zusammenhängend von der direkt subperidermalen Zellage bis zum strat.germinativum hin. In unserem Material war der ICR in allen Lagen optisch leer. An die B.M. grenzt der ICR fast nie direkt an.

Tag 18 (Haut): In keiner Schicht der Epidermis lässt sich ein wesentlich erweiterter ICR erkennen. Vom strat. lucidum durchlaufend bis zur B.M. liegen die einzelnen Lagen mit kontinuierlich aneinandergrenzenden Zellmembranen aufeinander. In dem geringfügig besonders im strat. basale sichtbaren ICR ist keine struktuierte elektronenoptisch fassbare Substanz registrierbar.

4.Tag post partum: Ein erweiterter ICR ist auf das strat. germinativum beschränkt. Er wird durch eine Vielzahl von Zellfortsätzen kleinkammerig unterteilt. Im darübergelegenen strat. corneum existiert kein deutlicher ICR. Gelegentlich reicht der ICR im strat.basale bis an die B.M. heran.

C) Kontaktverhältnisse

Tag 9: Die vorherrschende interzelluläre Kontaktform in diesem einschichtigen Epithel ist die zonula ooccludens (tight junction)und zonae adhaerentes.

Tag 12: Als Kontaktformen zwischen den Zellen des Epithels stellen wir zonae adhaerentes und zonulae occludentes (tight junctions) fest. Desmosomen sind noch nicht vorhanden.

Tag 14 : Wir finden Kontakte einmal zwischen Zelleibern direkt, andererseits über Zellfortsätze. Bei beiden Möglichkeiten beobachtet man zonae adhaerentes, tight junctions und erst angedeutet ausgebildete Desmosomen, in die jedoch noch keine Fibrillen einstrahlen. Im Periderm finden wir keine Desmosomen, nur zonae adhaerentes und tight junctions.

Tag 15 : Insgesamt betrachtet ergeben sich wie am Vortage

close junctions, tight junctions und zonae adhaerentes. Bei der Vergrösserung 2-5ooo x können wir keine Desmosomen ausmachen. Eine Bevorzugung eines bestimmten Verbindungstypes in einer Lage ergibt sich nicht. Zonae adhaerentes verlaufen manchmal über sehr lange Strecken. Vereinzelt bei starker Vergrösserung treffen wir sich entwickelnde Desmosomen an.

Tag 16 : Auch hier sieht man wieder langgezogene zonae adhaerentes, die manchmal in tight junctions übergehen. Unvollständig ausgebildete Desmosomen mit teilweise gut angelegten Haftplatten sind hier und da erkennbar. In einige dieser Desmosomen strahlen mehr Filamente ein, als in die bisher beschriebenen Formen.

Tag 18 (Oralmukosa): Es sind zahlreiche Desmosomen in allen Lagen des Epithels vorhanden. Zwischen Peridermzellen und zwischen Periderm und darunterliegendem Epithel werden Desmosomen (hier besonders zahlreich) sowie zonae adhaerentes gefunden. Tonofilamente, diein die Desmosomen einstrahlen, sind kaum sichtbar. Die Ausdehnung der Desmosomen entlang der Zellmembranen ist noch begrenzt, so dass sie oft kugelförmig erscheinen.

Tag 18 (Haut) : Sowohl Peridermzellen untereinander als auch Periderm- und strat. granulosum -zellen weisen Desmosomenkontakte auf. Gleiches gilt für die strat.granulosum- zellen. Eine fortgeführte Entwicklung der Desmosomen gegenüber dem Vortag ist nicht deutlich fass - bar.

4.Tag post partum : Sowohl im strat. granulosum als auch im strat. germinativum sind fertigausgebildete Desmosomen vorhanden. Die Einstrahlung von Tonofilamenten in die desmosomalen Grundplatten ist gering. Die Differenzierung des desmosomalen Interzellularraumes dagegen ist für dieses Stadium typisch.

D) Basalmembran

Tag 9 : Entlang der gesamten basalen Zellmembran ist eine aufgelockerte Schicht fibrillären Materials vorhanden, die auch schon kontinuierlich über den basalen Interzellularraum zwischen benachbarten Epithelzellen hinwegzieht. Bobbins gibt es zu diesem Zeitpunkt nicht.

Tag 12 : Das schon am 9. Tag gesichtete extrazelluläre Material entlang der basalen Zellmembran hat sich merklich verdichtet und die Gesamtschichtdicke der Basalmembran hat zugenommen. Die basale Zellmembran verläuft leicht gewellt an der Epitheloberfläche ohne bemerkenswerte strukturelle Differenzierungen.

Tag 14 : Die B.M. erscheint als kontinuierliche von der basalen Epithellage deutlich abgesetzte Linie, die sich auch über Zwischenzellräume der basalen Epithelzellen fortsetzt. Zum adepidermalen Raum und zum Corium hin gehen von der zentralen durchlaufenden B.M.- linie grosse Mengen feinsten fädigen Materials aus,das wohl aus Enden des membranösen Fibrillengeflechts besteht. Vereinzelt liegen Zellfortsätze der Corium - Fibroblasten nach Art der close junction an der B.M. an. Besondere Kontaktverhältnisse sind an der Zellmembran der basalen Epithellage nicht zu finden. Der ICR reicht bis an die B.M. heran.

Tag 15 : Die B.M. hat jetzt in der Übersicht den adepidermalen Raum mit optisch dichtem Material angefüllt (lamina rara interna). Nur hier und da erscheint dieser Raum wie am Tag 14. Ab und zu scheinen feine Coriumfibrillen die B.M. zu überqueren; dieses ist jedoch als Projektionsverschiebung anzusehen. Die unter der B.M. liegenden Bindegewebsfibrillen bilden ein Geflecht und berühren gelegentlich die B.M. Die schmalen ICR des Tages 15 reichen fast nie an die B.M. heran, sondern die basalen Zellmembranen benachbarter Zellen stossen

fast regelmässig zusammen. Vereinzelt erkennen wir an der basalen Zellmembran hier punktförmige dort mehr längliche Verdichtungen. Gelegentlich liegen Vakuolen an der basalen Zellmembran.

Tag 16 : In der Übersicht (6ooo x) verläuft die B.M.streng parallel zur basalen Zellmembran. Ihre optische Dichte schwankt in ihrem Verlauf unregelmässig. Eine Kongruenz der beginnenden Bobbins mit den Verdichtungen der B.M., wobei letztere elektronenoptisch weniger dicht sind als erste, lässt sich nicht feststellen, wenn auch ab und zu die Verdichtungszonen beider Strukturen gegenüberliegen zu scheinen. Bei höchster Vergrösserung (14ooo x) lässt sich eine klare Struktuierung der B.M. in lamina densa, lamina rara externa und interna nicht analysieren. Der adepidermale Raum ist mit Filamenten angefüllt. Schon bei schwacher Vergrösserung erkennen wir in unregelmässigen Abständen länglich geformte Verdickungen der basalen Zellmembran. Die Länge der einzelnen Verdickungen ist ziemlich einheitlich. Hier und da ergibt sich bei Vergr.14ooo eine feine strahlige Auffaserung der Verdichtung in Richtung Zytoplasma.

Tag 18 (Haut und Oralmukosa): Das feine Filamentgeflecht der lamina rara interna weist regellose Aufhellungen und Verdichtungen auf. An den wenigen Stellen, wo der ICR des Epithels direkt an die B.M. heranreicht, schiebt sich die lamina rara interna nicht in den Zwischenraum zwischen die beiden strat. basale - Zellen hinein, sondern die Parallelität zur basalen Zellmembran wird gewahrt. Die lamina rara externa geht oft ununterscheidbar in das subepidermale extrazelluläre Kollagen- bzw. Präkollagengeflecht über. An der basalen Zellmembran haben sich die Hemidesmosomen weiterentwickelt. Bevorzugt weist der der basalen Zellmembran anliegende Zytoplasmaraum wenig Zellorganellen auf.

4. Tag post partum: Die basale Zellmembran hat in ihrem Ver-

lauf viele Hemidesmosomen. Verschiedene Differenzierungsgrade sind erkennbar. Die den Bobbins gegenüberliegenden Abschnitte des adepidermalen Raumes und der dann folgenden B.M. sind elektronenoptisch dichter als entsprechende benachbarte Abschnitte. Somit entsteht der Eindruck, dass Filamente den adepidermalen Raum ausgehend von der basalen Zellmembran überqueren und in der B.M.verankert sind. Unterhalb der B.M. folgt ein dichtes Netz von Bindegewebsfibrillen. Der Verlauf der B.M. und der basalen Zellmembran ist stark gewellt, oft senken sich zackige Ausläufer in das subepidermale Bindegewebe ein.

E) Tonofilamente, Verhornung.

Am Tag 9., 12., 14., und 15. sind in den Epithelzellen Tonofilamente fast garnicht aufzufinden. Das Zytoplasma wird zum Hauptteil von dem grossen Kern, Mitochondrien und dem rauhen endoplasmatischen Reticulum eingenommen. Es existieren in diesen Tagen keine Anzeichen für den Beginn der Verhornung.

Tag 16: Besonders in den Bereichen an der basalen Zellmembran, in denen auch die beginnenden Bobbins gesehen werden, aber auch dort, wo wir Desmosomen in Ausbildung sehen, erkennt man in der Übersicht (Vergr.6ooo) und bei stärkerer Vergrösserung feine Filamente im Zytoplasma. Die einzelnen Filamente laufen in etwa parallel zu - einander. An der basalen Zellmembran laufen die Filamente vertikal, im Winkel von 45 Grad oder auch parallel zu ihr, wobei sie dann besonders dicht gepackt sind, jedoch nie so dicht, dass man einzelne Filamente nicht mehr unterscheiden könnte. Das übrige Zytoplasma ist tonofilamentarm bezw.- frei.

Tag 18(Oralmukosa): Nur vereinzelt im Bereich sich entwikkelnder Hemidesmosomen entlang der basalen Zellmembran sind feine Filamente erkennbar. Die anderen Zellagen incl. Periderm weisen diese Strukturen nicht auf.

Tag 18 (Haut): Die Tonofilamente sind gut ausgebildet mit

einer deutlichen perinukleär filamentfreien Zone. Filamentbündel sind verzweigt, verbunden miteinander und münden auch in die KHG ein. Eine bevorzugte Orientierung auf die desmosomale Grundplatte wird nicht festgestellt. An diesem Tag erkennen wir die Anzeichen einer beginnenden Verhornung der Rattenepidermis. Am bemerkenswertesten sind dabei die KHG in den obersten beiden Schichten des insgesamt ungefähr sechsschichtigen strat. granulosum. Die KHG sind oft von enormer Ausdehnung und erstrecken sich teilweise quer durch die Zelle von Zellmembran zu Zellmembran. Beeindruckend ist ihre Substruktur. Man sieht eine Anhäufung von ovalen bis kreisrunden Partikeln, die in eine elektronenoptisch dichtere Matrix eingelagert sind; ein Phänomen, das entfernt an die plurivakuoläre Fett - speicherung erinnert. Eng benachbart sind hier und da Partikel gleicher optischer Dichte, aber von weitaus kleineren Ausmassen. In den tieferen Schichten des strat.granulosum ist die Feinstruktur der KHG fast ganz aufgehoben. Es bleibt nur eine feine Granulierung, die sich in Richtung strat. basale immer mehr verliert. In diesem Bereich ist auch der Gesamtdurchmesser der KHG verglichen mit den grossen Gebilden direkt subperidermal erheblich reduziert.

4. Tag post partum: Die Verhornung lässt alle ihre bekannten Stadien erkennen; kleine KHG im unteren strat.granulosum; grössere und teilweise konfluierende KHG in den höheren Granulosum - Schichten und schliesslich die Ausfüllung des gesamten intrazellulären Raumes mit Keratin, so dass alle anderen Zellorganellen verdrängt werden.Die Keratinlamellen weisen Dichteunterschiede in ihrem Ver - lauf auf. Eine regelmässige Feinstruktur ist nicht gege - ben. Die KHG haben zum Teil noch eine grob- oder feingranuläre Substruktur und stehen in häufigem Kontakt mit Tonofilamenten, die sich an sie anlagern oder in sie ein - strahlen. Im Zellraum (strat.granulosum) sind zahlreiche Tonofilamentbündel.

F) Corium Fibroblasten

Am Tag 9 sind nur ganz vereinzelt Filamente (9o - 15o Å) im Corium sichtbar.

Tag 12 : Bindegewebsfilamente sind im subepithelialen Raum nur sehr spärlich ausgebildet. Hier und da stehen die Filamente im engen räumlichen Kontakt zur Basalmembran .

Tag 14 : Im Corium finden sich jetzt reichlich Fibroblasten zusammen mit zahlreichen längs- und quergetroffenen Zytoplasmafortsätzen. Die Anzahl der Filamente hat gegenüber den vorausgegangenen Tagen zugenommen. Sie erreichen beträchtliche Länge und verlaufen teils gradlinig, teils gewunden. An manchen Stellen liegen sie deutlich der Oberfläche von Fibroblasten an. In den Fibroblasten sind variabel geformte Mitochondrien des Cristae - Types und zahlreiche Profile des rauhen E.R. enthalten.

Tag 15 : Die Fibroblasten haben vielfach die gleiche Grösse wie Epithelzellen erreicht oder sind noch grösser. Die vielen Zellfortsätze bleiben wie am Vortage erhalten. In den Fibroblasten ist das rauhe endoplasmatische Retikulum stark ausgebildet. Daneben finden wir Mengen von Mitochondrien. Manche Kollagenfibrillen haben an Umfang zugenommen, ihre Zahl insgesamt scheint aber nicht wesentlich zugenommen zu haben. Meist liegen die Fibroblasten weit voneinander entfernt, auch nicht durch Zellfortsätze ver - knüpft.

Tag 16 : Die Fibrillen des Coriums, jetzt von teilweise beträchtlicher Dicke, strahlen gelegentlich in die lamina rara externa der B.M. ein. In einigen Fibroblasten - Fortsätzen sind grosse Ansammlungen von Vakuolen, an ihrer Oberfläche Haufen filamentösen Materials. Im Fibroblasten gibt es einen umfangreicheren Golgiapparat als in den Epithelzellen, ausserdem reichlich Mitochondrien, ein weit - läufiges rauhes E.R. und grosse Mengen freier Ribosomen. Ein Teil der Fibrillen zeigt eine beginnende Feinstruktur.

Tag 18 (Oralmukosa, Haut) : Im Corium kommen grosse Fibroblasten vor, mit zahlreichen Mitochondrien, rauhem E.R. und ausgedehntem Golgiapparat. Sie haben zahlreiche Zytoplasmafortsätze, die bis an die B.M. heranreichen. Teilweise stossen Fibroblasten mit ihren Fortsätzen aneinander. Die Fibrillen im corialen ICR verlaufen zum Teil parallel zueinander, sind inhomogen aber ohne Periodizität strukturiert.

4.Tag post partum : Das Corium weist eine Vielzahl von einzeln oder gebündelt verlaufenden Fibrillen auf, deren grösste Dichte unmittelbar unterhalb der B.M. erreicht wird. Teils verlaufen sie überwiegend gradlinig, teils mehr in gewellter Form. Die Fibroblasten weisen gegenüber bisherigen Befunden keine Abweichungen auf.

G) Nukleus/Endoplasmatisches Retikulum (Epithelzellen)

Tag 9 : Der Zellkern ist gross, er nimmt manchmal 8o % des Zellquerschnittes ein. Auf der Kernmembran liegen Chromatinauflagerungen. Perinukleär ist ein schmaler Hohlraum sichtbar.(perinukleäre Cisterne). Ein E.R. ist kaum vorhanden.

Tag 12 : Die den überwiegenden Teil des Protoplasmaraumes einnehmenden Kerne sind bei einschichtigen Epithel und bei zweischichtigen Epithel in der superfiziellen Lage oberflächenparallel angeordnet.

Tag 14 : Soweit die Kerne angeschnitten sind, nehmen sie in allen drei Zellagen ca. 4o bis 7o% des Zytoplasmaraumes ein. Ein oder mehrere Nukleoli sind erkennbar. Langgestreckte Hohlräume des E.R. existieren vereinzelt, sind jedoch nicht in allen Zellen nachzuweisen. Es ist in den beiden unteren Epithelschichten reichlicher ausgeprägt als im Periderm.

Tag 15 : In allen Lagen nehmen die Kerne im Querschnittsbild 5o - 8o % des Zytoplasmas ein. Die Kerne sind rund, oval oder polygonal. Wenn angeschnitten, liegt meist ein grosser inhomogen strukturierter Nukleolus vor. Das E.R.

befindet sich in Zellen aller Lagen mit Bevorzugung des strat.basale.

Tag 16 : Die Kerne nehmen nach wie vor einen beträchtlichen Teil des Zytoplasmas für sich in Anspruch. Das intrazelluläre Glykogen ist nur selten in Kernnähe zu finden. Mitochondrien liegen der Kernmembran oft sehr eng an. Lange Schläuche des rauhen und glatten E.R. kommen in allen Lagen vor.

Tag 18 (Oralmukosa): Die Kern-Plasma-Relation entspricht den Verhältnissen des Vortages. Die Kerne sind rund oder zeigen Einstülpungen des Karyolems. Die Zellkerne des Periderms sind bevorzugt länglich und oberflächenparallel angeordnet. Das E.R. ist im Periderm mässig, in den anderen Epithellagen reichlich vorhanden. Vakuolen, pinozytotische Vesikel und Mitochondrien treten in enge Nachbarschaft zum Kern.

Tag 18 (Haut) : Im strat. granulosum enthalten die Kerne Partikel, die nach Grösse, Form und Dichte offenbar KHG sind. Daneben erscheinen gleich dichte aber viel kleinere runde Partikel im Kern. Diese kleinen Partikel sind aber auch im Zytoplasma vorhanden. Das E.R. nimmt an Ausdehnung von basal nach peridermal in der Epidermis ab.

4.Tag post partum : Das strat. corneum sensu strictu (strat.lucidum) enthält nie Zellkerne. Im strat. granulosum sind nur wenige angeschnitten. Diese sind gross , oval mit ihrer Längsachse parallel zur Oberfläche ausgerichtet. Die Kerne des strat. germinativum, die fast regelmässig angeschnitten sind, sind polygonal mit Tendenz zur Bildung von Ausläufern und Einstülpungen.

H) Zellorganellen

Tag 9: An der äusseren Zellmembran und der basalen Zellmembran des einschichtigen Epithels kommen pinozytotische Vesikel vor. Wir finden grosse Mitochondrien vom Tubuli - oder Cristae - Typ, häufig in Kernnähe. Das charakteristische elektronenmikroskopische Kennzeichen

ist aber die grosse Zahl freier Ribosomen, die zu Polysomen gruppiert sind.

Tag 12 : Pinozytotische Vesikel sind sichtbar. Es gibt zahlreiche Mitochondrien in den verschiedenen Regionen des Zytoplasmas bevorzugt in Nachbarschaft der Kanäle des rauhen endoplasmatischen Retikulums. Die freien Ribosomen überwiegen weiterhin.

Tag 14 : Der Vorgang der Pinozytose ist an mehreren Stellen zu beobachten. Die Mitochondrien sind überwiegend länglich - oval oder rund geformt. Am wenigsten sieht man sie im Periderm. Der Golgiapparat ist nur in den unteren Epithellagen sicher aufzufinden. Mitochondrien und E.R. liegen oft in enger Nachbarschaft, Dazwischen kommen weiterhin viele freie R. (R = Ribosomen) vor.

Tag 15 : In allen Lagen sind Vakuolen ab und zu auch mit Einschlüssen sichtbar. Verteilung im Epithel und intrazelluläre Verteilung der Mitochondrien wie am Vortage. Manchmal sind sie besonders dicht an der basalen Zellmembran angehäuft, zusammen mit Ribosomen des rauhen E.R., und Vakuolen; viele freie Ribosomen.

Tag 16 : Wie Tag 15. Sonst gibt es massige Ansammlungen von Glykogen. Mitochondrien, freie Ribosomen und Golgi - apparat verhalten sich wie am Vortage.

Tag 18 :(Oralmukosa): Die gesamte peridermale Oberfläche ist mit einfachen oder verzweigten Villi bedeckt. An dieser Oberfläche und in den anderen Lagen zeigen sich pinozytotische Vesikel. Die Mitochondrien liegen vor allem in der der Oberfläche abgewandten Zellhälfte. Glykogen ist in allen subperidermalen Schichten vorzufinden, besonders konzentriert um vakuolige Hohlräume, Im ICR tritt Glykogen nicht auf.

Tag 18 (Haut): Die Anzahl der Villi an der Oberfläche des Periderms ist stark reduziert. Eine Abschnürung von pinozytotischen Vesikeln wird nicht mehr festgestellt. Direkt über dem Periderm extracorporal liegt vereinzelt eine

granuläre Substanz. Im gesamten strat. granulosum mit Progredienz zum Periderm hin wird die Zahl der Zellorganel - len vermindert, so dass in diesem Bereich nur kleine Mitochondrien, bevorzugt vom Cristae - Typ und wenig Golgi - Apparat anzutreffen sind. Das Periderm ist zu diesem Zeitpunkt ohne Organellen. In den oberen Schichten der Epidermis ist kein Glykogen mehr vorhanden. Die vorher bedeutsamen Ansammlungen im strat. germinativum sind erheblich reduziert.

4. Tag post partum : Zellorganellen sind im strat. lucidum überhaupt nicht mehr zu sehen, im strat. granulosum nur sehr gering vorhanden, während die Ausstattung des strat. germinativum mit diesen Strukturen den bisherigen Schil - derungen entspricht.

Diskussion :
==========

Aufgrund der von uns erfassten Literatur und nach den Ergebnissen unserer eigenen Untersuchungen lassen sich vier morphologisch definierbare Stadien der Entwicklung der Rattenhaut darstellen:

1.) Das einschichtige Epithel, welches morphologisch und funktionell dem Amnionepithel ausserordentlich ähnlich ist (Thomas,1965);

2.) Eine zwei- oder mehrschichtige Epidermis mit einer speziell differenzierten superfiziellen Zellage, dem Periderm;

3.) Die Epidermis mit beginnender Verhornung und noch teilweise erhaltenem Periderm;

4.) Die vollständig keratinisierte adulte Epidermis, nachdem das Periderm desquamiert worden ist.

Diese einzelnen Stadien weisen unterschiedliche Adhäsionsverhältnisse zwischen den Zellen auf. Der früheste spezielle Kontakt zwischen benachbarten Epithelzellen ist die tight junction. Dieser Befund entspricht bisher veröffentlichten Resultaten von anderen Tieren und von Epithelien von Hohlorganen. So konnte Noack (1969) und auch Sheridan (1966) an der unbebrüteten Hühnerkeimscheibe tight junctions darstellen.

Bei der Neubildung von Hohlorganen, die von einem einschichtigen Epithel ausgekleidet werden, lässt sich ebenfalls eine derartig frühzeitige Entwicklung dieser Kontaktform verfolgen. Ein klassisches Beispiel hierfür ist die Coelomentwicklung aus dem praemesodermalen Mesenchym (Brümmel, 1969).

Diese frühe Ausbildung von derartigen Kontaktstellen weist auf die besondere Wichtigkeit der Zelloberflächendifferenzierung hin, die sich aufgrund der Ergebnisse der Löwen - steinschen Schule besser deuten lassen (Literatur siehe Merker, 1969). Diese Autoren konnten zeigen, dass die tight junctions in Längsrichtung, also parallel zur Zellmembran, undurchlässig sind, selbst für kleinste molekulare Partikel (z.B. Ionen, H_2O).

Im Gegensatz dazu lässt sich ein freier Fluss von Ionen und H_2O, sowie anderen niedermolekularen Substanzen senkrecht zur Zellmembran, also von Zelle zu Zelle eindeutig nachweisen. Funktionell gesprochen bedeutet das im Bereich der Epidermis die Bildung einer kontinuierlichen Grenzschicht zwischen extra- und intrakorporalem Raum und die Bildung einer zusammenhängend reagierenden und sich differenzierenden Epidermis.

Unter diesen Gesichtspunkten ist es durchaus verständlich, dass sich tight junctions zu diesem frühen Zeitpunkt bereits ausbilden müssen. Die frühe Rattenepidermis weist Interzellularräume von beträchtlichem Ausmass auf (Tag 9). Diese Räume erreichen maximale Dimensionen am Tag 14 der Embryonalentwicklung.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass das Periderm in der embryonalen Anlage räumlich dem Amnionepithel sehr nahe und morphologisch sehr ähnlich ist, (Wolf, 1967) sowie des Tatbestandes der gleichermassen ausgedehnten Interzellularräume im Epithel der resorbierenden Abschnitte des Magendarmkanals und der renalen Tubulusepithelien, darf man vermuten, dass auch funktionelle Analogien zwischen diesen hochdifferenzierten Epithelverbänden bestehen. Es ist dabei an einen Ionen- und Flüssigkeitstransport über Epithelbarrieren hinweg zu denken, in unserem speziellen Fall aus der Amnionhöhle in das subepidermale Mesenchym. (Ruggeri, 1967) Herzer et al.,197o) Die Vorstellungen zielen auf folgenden Mechanismus hin: Ionen werden aktiv in die Interzellularräume transportiert und das Wasser folgt dem osmotischen Gradienten entsprechend passiv nach. Dadurch werden die ICR erweitert. Bei diesen bemerkenswert grossen Interzellularräumen, die teilweise im Querschnitt direkte extrazelluläre Verbindungen zwischen dem subperidermalen Raum und der dermo - epidermalen Grenze schaffen, stellt sich die Frage nach den adhäsiven Kräften zwischen aneinandergrenzenden Zellen.

Eine ausgeprägte Interzellularsubstanz wie sie für das strat. lucidum und das strat. corneum des adulten Tieres höchst charakteristisch ist, (Matoltsky et al. ,1965), existiert im Stadium der grossen Interzellularräume (Tag 14) noch nicht. Auch die Ausdifferenzierung spezieller Adhäsionsstrukturen (siehe Einleitung) hat zu diesem Zeitpunkt noch nicht ein solches Ausmass erreicht, als dass man diese für die Kontinuität des Epidermalen Zellverbandes zur Erklärung heranziehen könnte. Wir sehen jedoch am 14. Tag eine überaus starke Ausbildung von Zellfortsätzen, die besonders an den Ecken der Zellen geradezu büschelförmig sich in den Interzellularraum erstrecken und dort mit den Fortsätzen der Nachbarzelle in Verbindung treten. Diese Verzahnung der Epithelzellen garantiert somit den Zusammenhalt der Körperoberflächenschicht bis zu dem Zeitpunkt, an dem der transepitheliale Flüssigkeitstransport entbehrlich wird oder nur noch eine untergeordnete Rolle spielt, weil andere weitaus effektivere Mechanismen ausdifferenziert worden sind (Placentakreislauf), und damit dieser Weg überflüssig wird.Dann entstehen Kontakte von grösserer Stabilität, nämlich Desmosomen und eine Inter - zellularsubstanz wird gebildet. Während die Ausdehnung des Interzellularraumes in der Folgezeit immer mehr abnimmt, finden wir eine Fülle kleiner oder mittlerer Erweiterungen wieder im verhornten Epithel. Hier ist jedoch eine deutliche Polarität zu beobachten. Diese beschriebenen Hohlräume befinden sich vorwiegend im strat.basale. Dieses Verhalten ist funktionell durchaus zu erklären unter der Voraussetzung, dass diese Spalten auch hier wieder dem Stofftransport und dem Stoffaustausch dienen. Wie später noch zu besprechen sein wird, muss zwischen unverhornten basalen und verhornten apikalen Epithel eine Barriere lokalisiert werden, das strat.lucidum, die einen Stofftransport von aussen her in die tieferen Epithel - schichten völlig verhindert.

Mit der Zunahme der Schichtenzahl muss die Versorgung von basal erfolgen und die Versorgung der Schichten direkt unterhalb dieser Barriere wird damit kritischer. Diese Schichten werden durch die Schaffung von Transportwegen (Interzellularräumen) an einen Stofftransport und Stoffaustausch angeschlossen. Eine gute Versorgung ist aber um so notwendiger , als der Verhornungsvorgang ein aktiver energieverbrauchender Synthesevorgang (siehe Abschnitt Verhornung) ist (Merker,1964). Das Vorhandensein von Interzellularlücken ist also das morphologische Äquivalent der Versorgung oberflächlicher Epithelschichten. Gleichzeitig mit der Änderung der Strömungsrichtung interzellularer Flüssigkeit im Epithel nach Einsetzen der Verhornung , ändern sich auch die Adhäsionsverhältnisse in den superfiziellen Schichten des Epithels .

Während basal die Zahl und die Ausdehnung der Desmosomen zunimmt, bilden sich im strat. corneum besondere Adhäsionsmechanismen aus. Hier findet sich eine Substanz von mittlerer elektronenoptischer Dichte zwischen den Zellen, deren Adhäsivität offenbar gross genug ist, eine Haftung aufrecht zu erhalten.

Zwischen beiden Adhäsionsverhältnissen besteht ein wesentlicher Unterschied : Die Desmosomen benötigen zu ihrer Funktion einen intakten Zellstoffwechsel ihrer Zellen. Bei Schädigung, z.B. Hypoxämie oder Intoxikation, verschwinden sie relativ schnell. Die Interzellularsubstanz der Hornschichten dagegen ist gezwungen, zwischen abgestorbenen oder absterbenden Zellen eine Haftung zu erreichen. Auch diese Substanz muss jedoch im Voraus synthetisiert werden. Ähnlich wie die Epithelzelle zur notwendigen Verhärtung kurz vor dem Sprung in die Verhornung eine gewaltige Syntheseleistung vollbringt, muss sie diese Interzellularsubstanz sowohl bilden als auch in den Interzellularraum sezernieren.(Matoltsky et al. 1965).Die Epithelzellen bereiten sich also während ihrer Wanderung von den basalen Schichten zur

Oberfläche auf ihre Funktion als mechanisch stabile aber deshalb notwendigerweise abgestorbene Zellen vor. Morphologisch wird diese Synthese- und Sekretionsleistung durch die membrane - coating - granules (MCG) dokumentiert, deren Zahl und Grösse vom basalen zum apicalen Epithel hin zu - nimmt, die sich schliesslich an der Zellmembran aufreihen und ihren Inhalt in den Interzellularraum entleeren. Das Zytoplasma in der nahen Umgebung der MCGs weist eine deutlich positive saure-Phosphatase-Reaktion auf.(Themann,1968) Da dieses Verhalten aber bei vielen uns bekannten Formen sekretorischer Granula vorkommt, kann es in diesem Zusammenhang nicht als spezifisches Indiz betrachtet werden. Weitere biochemische Untersuchungen der MCGs stehen noch aus. Wenn man jetzt noch berücksichtigt, dass während der Verhornung nicht nur der Verlauf der Zellmembran, sondern sich auch ihre Feinstruktur ändert, so kann jetzt ein Differenzierungsschema der embryonalen Epidermis entworfen werden, das sich nicht nur an zytologischen, sondern auch fein - strukturellen Merkmalen orientiert. Die Feinstruktur des Zytoplasmas in den ersten beiden beschriebenen Phasen entspricht dem relativ unspezifischen Aussehen embryonaler Zellen.

Bei einer grossen Kern-plasma-relation finden sich bei fast fehlendem endoplasmatischen Retikulum und wenigen Mitochondrien vorwiegend freie Ribosomen, die meist gruppiert sind. (Polysomen).

Nach vergleichend biochemisch-elektronenmikroskopischen Untersuchungen muss angenommen werden,dass diese Ribosomen - form für die Synthese derjenigen Proteine verantwortlich ist, die in der Zelle verbleiben, also Enzym- und Strukturproteine, sowie metaplastische Substanzen (z.b.Myo - und Tonofilamente).(Birbeck and Mercer 1961; Mercer 1961). Da in den letzten Jahren immer deutlicher wurde, dass die Mitose nur der kurze Endpunkt einer langen Entwicklung ist,in der sich die wichtigsten Zellsubstanzen verdoppeln, ist ein derartiger Ribosomenreichtum in diesem proliferativ

hochaktiven Gewebe durchaus verständlich. Spezifische morphologische Kennzeichen lassen sich in den beiden letzten Stadien darstellen. Die basalen Schichten ähneln zwar weiterhin mit ihrem Ribosomenreichtum den beschriebenen undifferenzierten Zelltypen, in den mittleren Schichten dagegen treten jetzt Tonofilamente und in den oberflächlichen Schichten sogar die erste Generation von Keratohyalingranula (KHG) auf. Diese eigentümlich strukturierten Einschlüsse sind bereits beschrieben (Bonneville 1968) und sind bisher in dieser Form nur bei der Ratte und hier nur während der sehr kurzen Phase der embryonalen Verhornung gefunden worden. Im späteren Leben der Ratte wird diese Form nicht mehr beobachtet. Ob diese Strukturen eine besondere funktionelle Bedeutung haben, ist noch nicht bekannt.

Das letzte Stadium umfasst die eigentliche Verhornung. Im elektronenmikroskopischen Bild kann man dabei eine Bildung von Tonofilamenten in den basalen und mittleren Zellschichten feststellen; im strat. granulosum treten zunehmend an und um solche Filamentbündel dunkle Partikel auf, die Keratohyalingranula. Beim abrupten Sprung in die Verhornung entsteht dann eine elektronenoptisch dichte Matrix mit eingelagerten Filamenten, während die Zellorganellen weitgehend verschwinden.(Brody, 1959).

Sowohl Tonofilamente als auch die im strat. granulosum neu auftretenden Strukturen werden unter Mitwirkung zahlreicher Ribosomen gebildet, d.h.es laufen hier aktive energieverbrauchende Syntheseprozesse ab. Die Verhornung ist also nicht die Folge eines degenerativen Vorganges im vielschichtigen Plattenepithel, sondern hat als Voraussetzung die Synthese einer typischen Substanz: des Keratins. In diesem Sinne ist möglicherweise auch das reziproke Vorkommen von Glykogendepots im strat.germinativum und Verhornung zu erklären. Offenbar wird Glykogen als Energie- und Baustofflieferant während der Verhornung

verbraucht.(Wessels,1961; Hashimoto et al.1966).
Das elektronenmikroskopische Bild der verhornten Ratten - epidermis lässt darüber hinaus eine Zuordnung dieses Horngewebes zu einem der drei verschiedenen Verhornungstypen zu (siehe Einleitung). In der Keratinisation der Rattenepidermis lassen sich zweifellos Filamente und Matrix (KHG) darstellen. Sie entspricht also einem Ver - hornungstyp, der schon mehrfach beschrieben worden ist. (Wessels,1961; Brody,1959,196o; Hashimoto,1966)
Auch das Vaginalepithel der Ratte verhornt unter bestimmten Bedingungen (Östrus, Östrogengaben, Vitamin-A-Mangel, in vitro) nach dem gleichen Mechanismus (Merker,1964).
Noch nicht sicher entschieden ist bei den Verhornungstypen mit Keratofilamenten die Persistenz der basalen Tonofilamente. Nach unseren Befunden und nach den Vorstellungen von Brody (196o) kann aber angenommen werden, dass die Tonofilamente, wenn auch etwas verändert, bei der Verhornung benutzt werden.(Persistenz der Tonofilamente).
Die B.M. lässt sich bereits unter dem Epithel des Tages 9 nachweisen, wenn auch in diesem frühen Stadium die spätere Dichte und Geschlossenheit noch nicht erreicht wird. Dieses frühe Auftreten der Verdichtungszone zwischen mesenchymalen und ectodermalen Anteilen scheint zunächst unerwartet, da andere mesenchymale Interzellularstrukturen (Filamente und Fibrillen) nur spärlich, wenn überhaupt vorhanden sind. Andererseits ist aber aus den Untersuchungen von v.Bruchhausen und Merker (1965,1967) bekannt, dass ein Grossteil des B.M. - Materials aus Kollagen besteht. Es muss also angenommen werden, dass ein grosser Teil der ersten Sekretion der Bindegewebszellen für den Aufbau der B.M. verwendet wird. Interessant sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von Klöppel (1969) über den Beginn der B.M. - Bildung in frühen Hühnerembryonen. Sie konnten nachweisen, dass bereits vor dem Entstehen des klassischen

Mesenchyms aus den mesodermalen Strukturen Basalmembranen vorhanden sind. Sie werden offenbar von den Zellen des praemesodermalen Mesenchyms gebildet. Das frühe Auftreten der B.M.induziert natürlich die Frage nach der Funktion. Zunächst ist hier die mechanische Aufgabe der Stabilisierung der Epithelunterlagen und der Verhaftung des Epithels zu nennen. Darüber hinaus ist, in der Literatur bereits be - sprochen, an die Aufrechterhaltung des Hautpotentials und an die Filterfunktion zu denken. Gerade die letzte Funk - tion scheint bei dem Flüssigkeitstransport, der aufgrund der von uns geschilderten morphologischen Befunde zu er - warten ist, von praktischer Bedeutung zu sein. Interessant für Probleme des embryonalen Wachstums, der Differenzierung, aber auch des malignen Wachstums ist die Ansicht verschie- dener Autoren, dass es sich bei der B.M. um das morphologi- sche Substrat einer Antigen - Antikörper - Reaktion han - delt. (Lit.siehe Busch,1969).
Zweifellos erlangt während der Differenzierung die Epithel- zelle gewisse antigene Eigenschaften, die den übrigen Or- ganismus zwingen, eine Art von Antikörper zu produzieren. Dadurch wird das Wachstum des Epithels kontrolliert und vor allem die Wachstumsrichtung festgelegt. Trotz hoher proli- ferativer Aktivität wächst das Epithel bis auf wenige Aus- nahmen (Haar, Nagel, Zahnleiste) nicht in das Bindegewebe, sondern immer vom Bindegewebe weg.
Das Bindegewebe besteht aus typischen mesenchymalen Zellen, das heisst bipolaren oder reticulären Zellen, die neben freien Ribosomen als charakteristische Hohlräume das rauhe endoplasmatische Retikulum (E.R.) enthalten. Die Ausprägung des rauhen E.R. nimmt während der embryonalen Entwicklung zu. Gleichzeitig vermehrt sich auch die Zahl der interzellu- laren Strukturen des Bindegewebes. In Analogie zu Unter - suchungen der Bindegewebsneubildung an anderen Geweben kann angenommen werden, dass in den mesenchymalen Zellen, d.h. den Fibroblasten, sowohl Kollagen als auch MPS synthetisiert

werden (Schwarz,1965). Nach der Synthese und Sekretion lassen sich noch bis zur Ausbildung der reifen Bindegewebsmorphologie verschiedene Entwicklungsphasen unterscheiden: 1) Zusammenlagerung der Kollagenvorstufen zu Filamenten und Fibrillen, 2)ihr Dickenwachstum, 3) die Bündelung zu Fasern, 4) die Ausrichtung der Fasern zur typischen Textur. Bis zum 4.Tag nach der Geburt können in der Rattenhaut die Stadien bis zur Bündelung dargestellt werden. Die typische Textur des Coriums ist bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht vorhanden. Obwohl also das Epithel mit der Verhornung das Differenzierungsziel erreicht hat, schleppt offenbar die Reifung des darunterliegenden Bindegewebes nach. Zweifellos der morphologische Ausdruck des sehr frühen Geburtstermines der Ratte, die als ausgeprägter Nesthocker gilt. (Starck,1965).

RESUMEE
=======

Unsere Untersuchungen wurden an Hautproben von 9,12,14,15, 18 Tage alten Rattenembryonen und einer geborenen 4 Tage alten Ratte vorgenommen. Besonderes Augenmerk wurde auf die Entwicklung des subepidermalen Bindegewebes, der epithelialen Basalmembran, der epithelialen Kontaktverhältnisse und auf die Verhornung gerichtet.
Das Epithel entwickelt sich von einer einschichtigen Zellage am Tag 9 zunächst zu einem mehrschichtigen Epithel mit Peridermüberzug, welcher sich am Embryonaltag 18 abzulösen beginnt.Die Interzellularräume des Epithels, die morphologisches Äquivalent für einen transepithelialen Flüssigkeitstransport sind, erreichen ihre maximale Ausdehnung am Tag 14, verkleinern sich mit fortlaufender Entwicklung des Embryos wieder und sind im geborenen Tier nur noch im strat, basale vorhanden. Zu diesem Zeitpunkt dienen sie der Ernährung der oberen Schichten des Epithels.
Im Corium findet eine kontinuierliche Vermehrung von Bindegewebsfilamenten und -fibrillen statt, die von den an Zahl und Grösse gleichfalls zunehmenden Fibroblasten produziert werden. Schon am Tag 9 sind erste Ansätze der B.M. -Entwicklung erkennbar. Am Tag 14 kann man die B.M. schon als weitgehend ausgebildet bezeichnen. Die Funktionen für die B.M. werden genannt bzw. diskutiert.
Erste Kontaktform im embryonalen Epithel ist die zonula occludens (tight junction), die für elektrische Ströme als passierbar gilt und daher als Element der Informationsübertragung zwischen Zellen betrachtet wird. Daneben werden in der frühen embryonalen Entwicklung zonae adhaerentes gefunden und ab Tag 14 erste Ansätze von sich bildenden Desmosomen, die im adulten Epithel vorherrschende Kontaktform sind.

Erste Anzeichen der beginnenden Verhornung zeigen sich am Tag 16 in Form von Tonofilamenten. Am Tag 18 finden wir reichlich KHG, die bei der Ratte eine eigentümliche Substruktur aufweisen. Am 4.Tag post partum finden wir ein charakteristisches verhornendes mehrschichtiges Platten - epithel vor.

Literatur

Bell,E. und Thathachari,Y.T.: Development of feather keratin during embryogenesis of the chick.
J. Cell.Biol. 16,215-223 (1963)

Birbeck,M.C.S.,und Mercer,E.H.: Cytology of cells which synthesize Protein
Nature 189,558(1961)

Bonneville,M.A.: Observations on epidermal differentiation in the fetal rat
Americ.J.Anat. 123,147-164 (1968)

Brody,I.: An ultrastructural study on the role of the keratohyalin granules in the keratinization process.
J.Ultrastruct. Res. 3,84-1o4 (1959)

- The keratinization of epidermal cells of normal guinea-pig skin as revealed by electron microscopy.
J.Ultrastruct. Res.2,482-511 (1959)

- The ultrastructure of the tonofibrils in the keratinization process of normal human epidermis.
J.Ultrastruct. Res.4,264-297 (196o)

v.Bruchhausen,F. und Merker H.J.: Gewinnung und morphologische Charakterisierung einer Basalmembranfraktion aus der Nierenrinde der Ratte.
Naunyn-Schm.Arch.exp.Path.u.Pharmak 251,1-12 (1965)

- Morphologischer und chemischer Aufbau isolierter Basalmembranen aus der Nierenrinde der Ratte.
Histochemie 8,9o-1o8 (1967).

Brümmel,R.: Das praemesodermale Mesenchym beim Hühnchen.
Dissertation an der F.U.Berlin (197o)

Busch: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Tumor-Bindegewebsgrenze beim Mammacarcinom der Frau.
Virchows Arch.Abt. A Path.Anat. 346,15-28 (1969)

Chapman,G.B.und Dawson,A.B.: Fine structure of the larval anuran epidermis with special reference to the figures of Eberth.
J.Biophys. Biochem. Cytol.1o,425-435 (1961)

Dodson,J.W.: The differentiation of epidermis I. The interrelationship of epidermis and dermis in the embryonic chicken skin.
J.Embryol.Exp.Morphol. 17,83-1o5 (1967)

- The differentiation of epidermis II. Alternative pathways of differentiation of embryonic chicken epidermis in organ culture.
J.Embryol.Exp.Morphol. 17,1o7-117 (1967)

Eakin,R.M. und Lehmann,F.E.: An electronmicroscopic study of developing amphibian ectoderm (Xenopus Laevis)
Wilhelm Roux'Arch.Entwickl.-Mech.Org. 15o, 177-198 (1957)

Fahrquahr,M.G.und Palade,G.E.: Cell junctions in amphibian skin.
J.Cell.Biol. 26,263-291 (1965)

Fawcett,D.W.: Structural specializations of the cell surface.
Frontiers in Cytology (Samford.L. Palay,Editor) New Haven,Yale University Press, 19-41 (1958)

Frieboes,W.: Beiträge zur Anatomie und Biologie der Haut II: Basalmembran:Bau des Deckepithels.
Derm.Zeitschrift 31,57-83 (192o)

Friedmann,I.: Attachment zones of cells in organ cultures of the isolated fowl embryo otocyst.
J.Ultrastruct.Res.5,44-5o (1961)

Hashimoto,K.,Gross,B.G.,Lever,W.F.,und Di Bella,R.J.: The ultrastructure of the skin of human embryos.
J.Invest.Derm.47,317-355 (1966)

Hay,E.D.: The fine structure of an anusual intracellular supporting network in the Leydig cells of Amblystoma epidermis.
J.Biophys. Biochem.Cytol.1o,457-463 (1961)

- und Revel,J.P.: Autoradiographic studies of the origin of the basement lamella in Amblystoma.
Devel.Biol.7,152-162 (1963)

Herxheimer,K.: Über die Epidermale Basalmembran
Derm.Zeitschrift 23,129-134 (1916)

Herzer,R.,Merker H.J.,Dennhardt,R. und Haberich,F.J.: Resorptions- und Sekretionsstudien am Darm (IV). Die Bedeutung der Interzellularspalten für den Netto - flüssigkeitstransport am Dickdarm mit gleichzeitigem histochemischen Nachweis von ATPase (Rattenversuche) Z.Ges.exp.Med.152,8-19 (197o)

Hoepke,H.: Die Basalmembran von Möllendorfs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen III/I 33-35 (1925)

Horstmann,E.: von Möllendorfs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen III/I,1-197 (1957) "Die Haut"

Kallman,F., Evans,J. und Wessels,N.K.: Anchor filament bundles in embryonic feather germ and skin. J.Cell.Biol. 32,236-24o (1967)

Kemp,N.E.: Electron microscopy of the developing basement lamella in the skin of anuran larvae. Anat.Rec.134,593 (1959) (Abstract)

- Replacement of the larval basement lamella by adult type basement membrane in anuran skin during metamorphosis. Develop. Biol.3,391-41o (1961)

Kirscher,C.W.: Effects of specific prostaglandins on development of chick embryo skin and down feather organ in vitro. Develop.Biol.16,2o3-215 (1967)

Klöppel,I.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Beginn der Basalmembran- und Fibrillenbildung im Interzellularraum früher Hühnerembryonen. Inauguraldissertation v.I.Klöppel, F.U.Berlin (1969).

Leeson,R.C. und Threadgold,L.T.: The differentiation of the epidermis in Rana Pipiens Acta anat.(Basel) 44,159-173 (1961)

Low,F.N.: Developing boundary membranes in the chick embryo Anat.Rec. 159,231-238 (1967)

Matoltsky,A.G.: Mechanismus of keratinization (in "Fundamentals of Keratinization"); Publication No.7o of the Americ. Assoc.for the Advanc.of Science Wash. D.C. (1962)

- und Parakkal,P.F.: Membrane-coating granules of keratinizing epithelia. J.Cell.Biol. 24,297-3o7 (1965)

McLoughlin,C.B.: The importance of mesenchymal factors in the differentiation of chick epidermis.II:Modification of epidermal differentiation by con - tact with different types of mesenchyme.
J.Embryol.Exp.Morphol.9,385-4o9 (1961)

Mercer,E.H. Keratin and Keratinization
Pergamon Press,Oxford.London, (1961)

Merker,H.J.: Über den Aufbau der Zellmembran
Berliner Medizin, 15,599-6o7 (1964)

- Die Veränderungen der Rattenvagina im Zyklus und unter experimentellen Bedingungen .
Habilitationsschrift F.U. Berlin (1964)

- Elektronenmikroskopische Morphologie der intestinalen Resorption.
Verh.Dtsch.Ges.Pathol 53,57-79 (1969)

Mottet,N.K. und Jensen,H.M.: The differentiation of chick embryonic skin .
Exp.Cell Res.52,261-283 (1968)

Noack,W.: Elektronenmikroskopische Unter - suchungen an der unbebrüteten Hühnerkeimscheibe .
Inaugural-Dissertation an der Med. Fak.der F.U.Berlin (1969)

Odland,G.F.: The morphology of the attachment between the dermis and epidermis .
Anat.Rec. 1o8,399-4o7 (195o)

- The fine structure of the interrelationship of cells in the human epidermis .
J.Biophysic.Biochem.Cytol. 4,529-538 (1958)

Overton,J.: Desmosome development in normal and reassociating cells in the early chick blastoderm .
Develop.Biol. 4,532-548 (1962)

Parakkal,P.F. und Matoltsky,G.: A study of the fine structure of the epidermis in Rana Pipiens .
J.Cell Biol. 2o,85-94 (1964)

Pflugfelder,O. und Schubert,G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Haut von Xenopus Laevis im Larvenstadium und während der Metamorphose nach Behandlung mit KClO
Z.Zellfor. 67,96-112 (1965)

Pierce, G.B.: The epithelial origin of basement membranes . J.Cell.Biol. 23, Abstracts of papers presented at the fourth annual meeting of the American Society for Cell Biology. Abstract No.151,p.74a (1964)

Porter, K.R.: Observations on the submicroscopic structure of animal epidermis . Anat.Rec.118,433 (1954) Abstract)

- und Pappas,G.D.: Collagen formation by fibroblasts of the chick embryo dermis . J.Biophys.Biochem.Cytol.5,153-166 (1959)

Prunieras, M.: Interactions entre les cellules de l'épiderme . Extrait de la Revue Francaise d'Etudes Cliniques et Biologiques, No.8,Vol.XIII,p 743-746,(1968)

Ruggeri,A.: Ricerche ultrastrutturali sull'ectoderma dell' embrione di pollo. Z.Zellf. 77,361-376 (1967)

Salpeter,M.M. und Singer,M.: The fine structure of the adepidermal reticulum in the basal membrane of the skin,of the newt, Triturus viridescens . J.Biophys.Biochem.Cytol.6,35-4o (1959)

Schaffer,J.: Vorlesung über Histologie u.Histogenese . Leipzig,W.Engelmann,69 (192o)

- " Das Epithelgewebe" . von Möllendorfs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen II/1,35-41 (1927)

Schmidt,A.J.: The basement membrane of the epidermis of the adult newt; the collagen nature of the fibers of the adepidermal reticulum . Acta.Anat.5o,17o-185 (1962)

Schwarz,W.: Fibrillogenese und Bildung der elastischen Fasern. Arch.Biol.(Liège) 75,369-37o (1965)

Selby,C.C.: An electronmicroscopic study of the epidermis of mammalian skin in thin sections. I.Dermoepidermal junction and basal cell layer. J.Biophys.Biochem.Cytol.1,429-444 (1955)

Sheridan,J.D.: Elektrophysiological study of special connections between cells in the early chick embryo.
J.Cell Biol. 31, C1 - C 5 (1966)

Singer,M. und Andrews, J.: The adepidermal reticular network of the skin of the newt, Triturus viridescens.
Acta.Anat. 28,313-33o (1956)

Squier,C.A.: Ultrastructural observations on the keratinization process in rat buccal epithelium.
Archs.Oral.Biol.,Vol.13 p 1445-1451 (1968)

Starck : Embryologie
2.Auflage 1965
Thieme Verlag Stuttgart.

Themann,H.: Feinstruktur des verhornenden Plattenepithels.
Hippokrates,39.Jahrg.,2o,761-764 (1968)
Hippokrates-Verlag Stuttgart

Thomas,C.E.: The ultrastructure of human amnion epithelium.
J.Ultrastruct.Res.13,65-84 (1965)

Trelstad,R.L.,Revel,J.P. und Hay,E.D.: Tight junctions between cells in the early chick embryo as visualized with the electron microscope.
J.Cell.Biol. 31, C6-C1o (1966)

- Cell contact during early morphogenesis of the chick embryo.
Develop.Biol. 16,78-1o6 (1967)

Vollrath,L.: Über Bau und Funktion der Basalmembran.
DMW 8,36o-365 (1968)

Voss,H. und Dorn,A.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Ektodermzellen im Neurula - stadium von Rana temporaria.
Z.Anat.Entw.-Gesch. 125,83-1oo (1966)

Voute,C.L.: An electronmicroscopic study of the skin of the frog (Rana pipiens).
J.Ultrastruct.Res. 9,497-51o (1963)

Weiss,P.: Cell contact.
Internat.Rev.Cytol. 7,391-424 (1958)

- und Ferris,W.: Electromicrograms of larval amphibian epidermis.
Exp.Cell.Res. 6,546-549 (1954)

- - The basement lamella of amphibian skin; It's reconstruction after wounding.
J.Biophys.Biochem Cytol 2,No.4 suppl. 275-281 (1956)

Wessels,N.K.: An analysis of chick epidermal differentiation in situ and in vitro in chemically defined media.
Develop.Biol. 3,355-389 (1961)

Wolf,J.: Structure and function of periderm II. Inner structure of peridermal cells.
Folia Morphologica No.3/Vol.XV (1967) (a)

- Structure and function of periderm I. Superficial structure of the peridermal epithelium.
Folia Morphologica No.3/Vol.XV (1967) (b)

- The relation of the periderm to the amnion epithelium.
Folia Morphologica No.4/Vol.XV (1967)

- Curve of development and disappearance of peridermal phase of human embryonic skin demonstrated by the Replica Method.
Folia Morphologica No.1/Vol.XVI (1968)

- The replacement of periderm by epidermis.
Folia Morphologica No.1/Vol.XVI (1968)

Wood,R.L.: Intercellular attachment in the epithelium of Hydra as revealed by electron microscopy.
J.Biophys.Biochem.Cytol. 6,343-352 (1959)

Woods,D.A. und Smith,C.J.: Ultrastructure of the dermal - epidermal junction in experimentally induced tumors and in human oral lesions.
J.Invest.Derm.,52 No. 3,p.259-263 (1969)

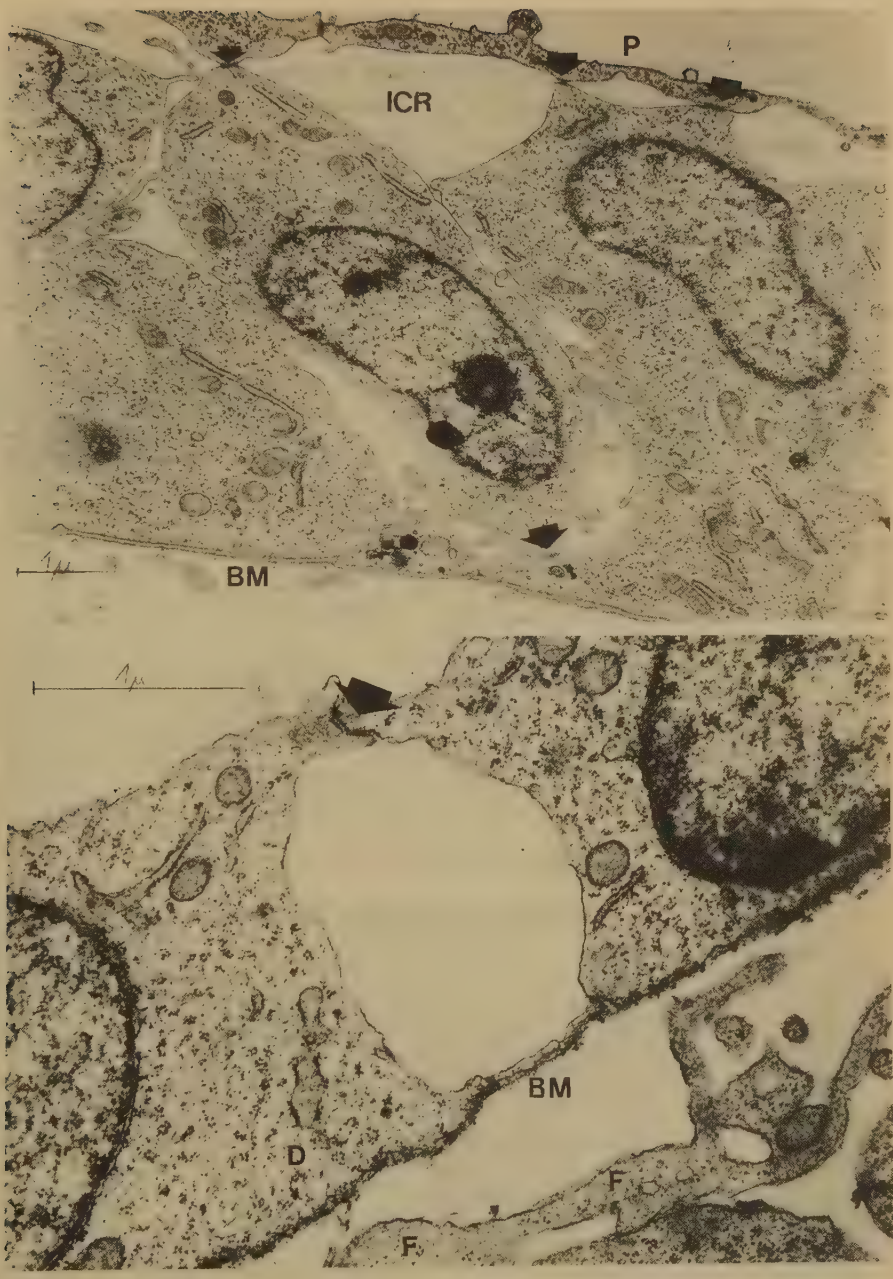
Haut Tag 9 :
Einschichtiges Epithel mit langgestreckten Zellen.
In den Zellen Mitochondrien (M) und endoplasmatisches
Retikulum (E.R.).
Im Corium sind Teile von Fibroblasten (F) angeschnitten.
(N = Nucleus, ↓ = Zellkontakte, ◯ = Filamente)
Vergrösserung 1:7ooo

Haut Tag 12 :
Die Zellen des Epithels gegenüber Tag 9sind abgerundeter.
Der Interzellularraum (ICR) ist grösser geworden. Vermehrte
Bildung von Villi im Periderm (↓). Beginnende Basalmembran-
bildung (B.M.).(F = Mesenchymzellen)
Vergr. 1:7ooo

F
N
O
O
ER
2μ
M
ER
M
F
ICR
BM
F
F

Haut Tag 14 :
Epithel mit Periderm(P). Die darunterliegenden Zellen des Epithels mit zahlreichen plumpen Zellfortsätzen. Weite Interzellularräume(ICR) Viele freie Ribosomen, Mitochondrien und Schläuche des E.R. intrazellulär. Gut ausgebildete Basalmembran (B.M.).
Tight junctions an mehreren Stellen (↓).
Vergr. 1:17500

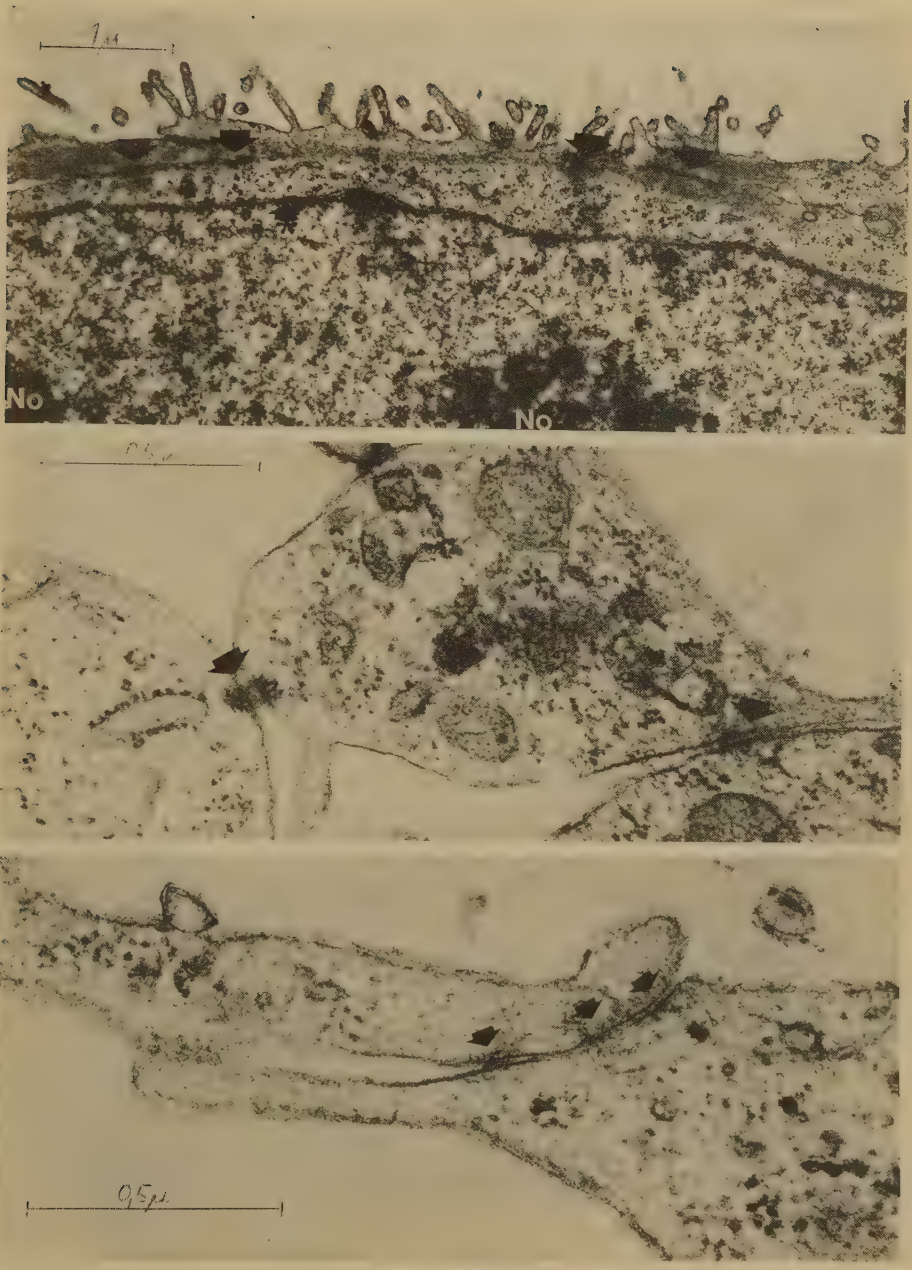
Haut Tag 12 :
Einschichtiges Epithel. Interzellulare Verbindung in Form der tight junction (↓). Die Basalmembran wird angelegt.
Im Corium Zellfortsätze eines Fibroblasten (F).
Vergr. 1:42000


P
ICR
1μ
BM
1μ
BM
D
F
F

Haut Tag 12:
Periderm mit zahlreichen Microvilli. Tight junctions als Verbindung zur unteren Epithelschicht (↓).(No = Nucleoli; ↧ = Kernmembran)
Vergr. 1: 24000

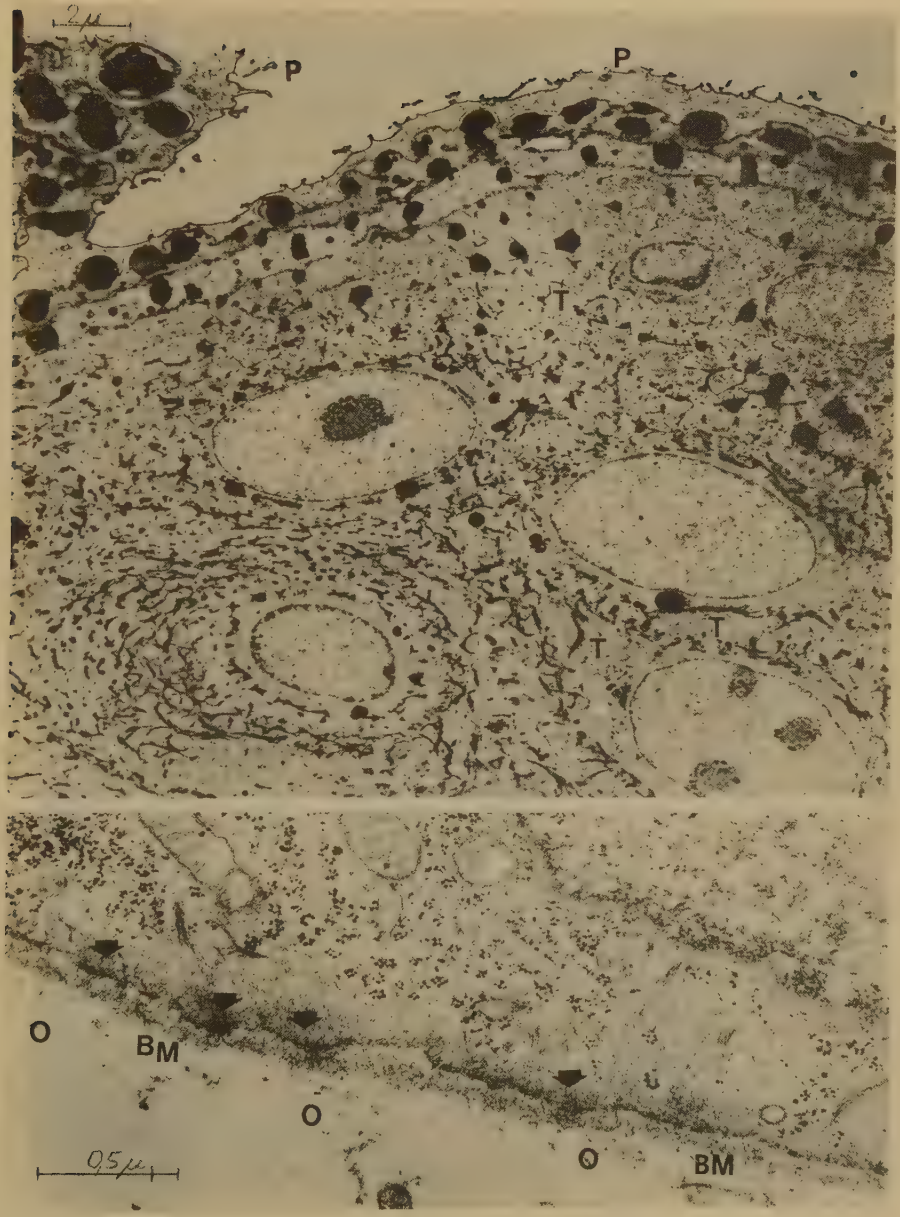
Haut Tag 14:
Zellkontakte : Frühe Stadien von Desmosomen (↓).
Vergr. 1: 84000

Haut Tag 14:
Zellkontakte : Tight junctions zwischen zwei Zellfortsätzen(↓)
Vergr. 1:94500


1 μ
No
No
0,5 μ

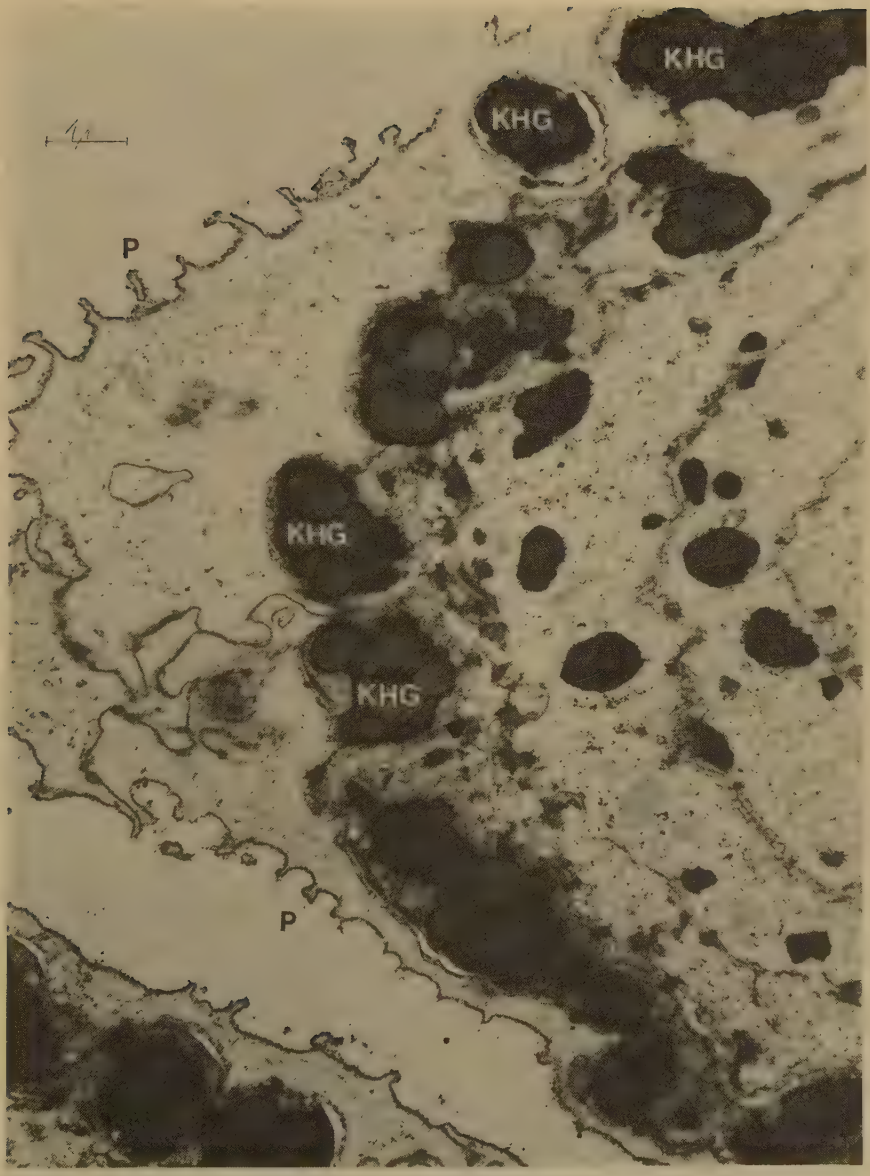
Haut Tag 18 :
Epithel mit Periderm (P) in Ablösung. Mehrere Schichten des strat. granulosum. Kerne mit perinucleärer filamentfreier Zone.
Reichlich Tonofilamente (T).
Vergr. 1:7000

Haut Tag 16 :
An der basalen Zellmembran beginnende Bobbins (↓) mit strahligen Ausläufern ins Zytoplasma.
Kontinuierliche , dicht strukturierte Basalmembran(B.M.). Im Corium sind nur wenige Kollagenfibrillen (○).
Vergr. 1 : 49000


2μ
P
P
T
T
T
O
BM
O
O
BM
0.5μ

Haut Tag 18 :

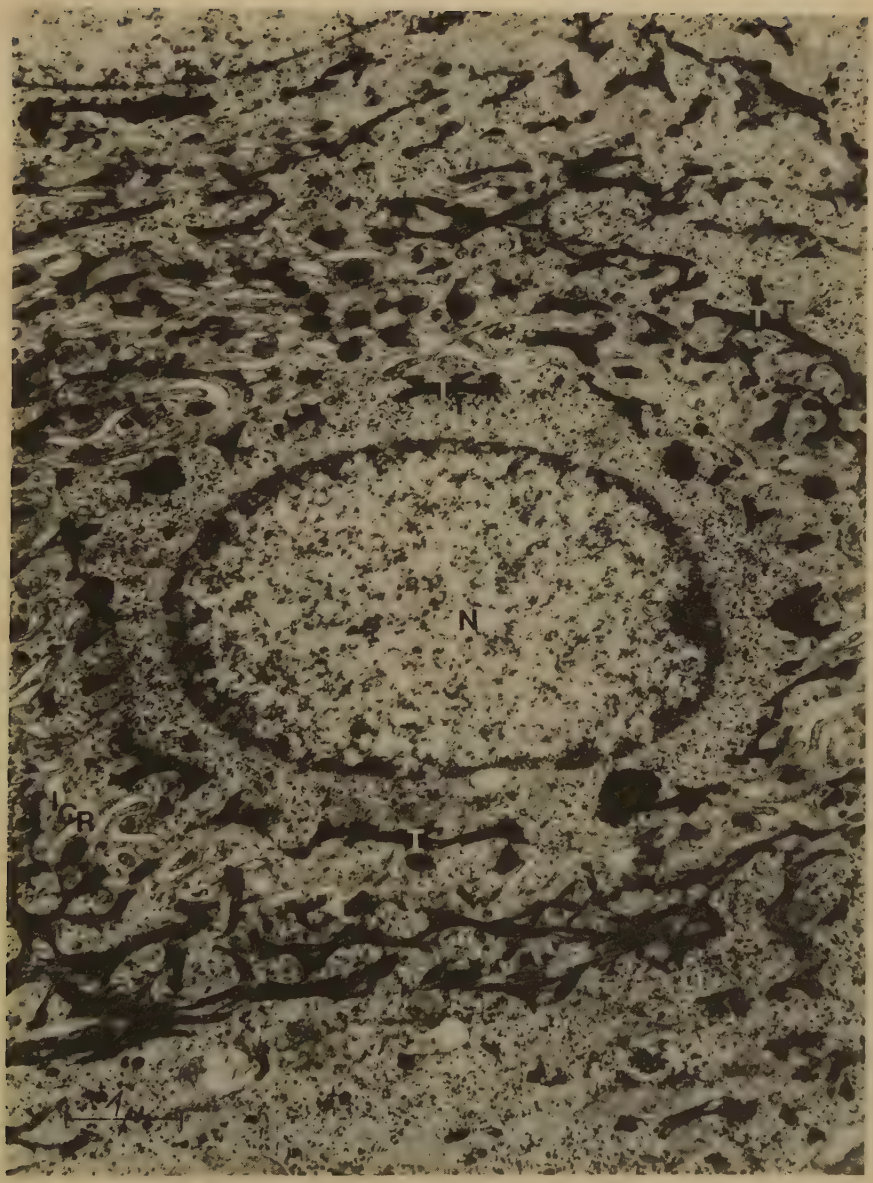
Periderm(P) mit Zeichen beginnender Ablösung (Bild unten rechts).
Darunter mehrere Schichten des strat. granulosum.
Bemerkenswerte Substruktur der Keratohyalingranula (KHG).
Vergr. 1:15000


KHG
KHG
P
KHG
KHG
P

Haut Tag 18 :

Perinucleäre filamentfreie Zone. Rundherum reichlich Tonofilamente (T). (N = Nucleus ; ICR = Interzellularraum)

Vergr. 1 : 21ooo

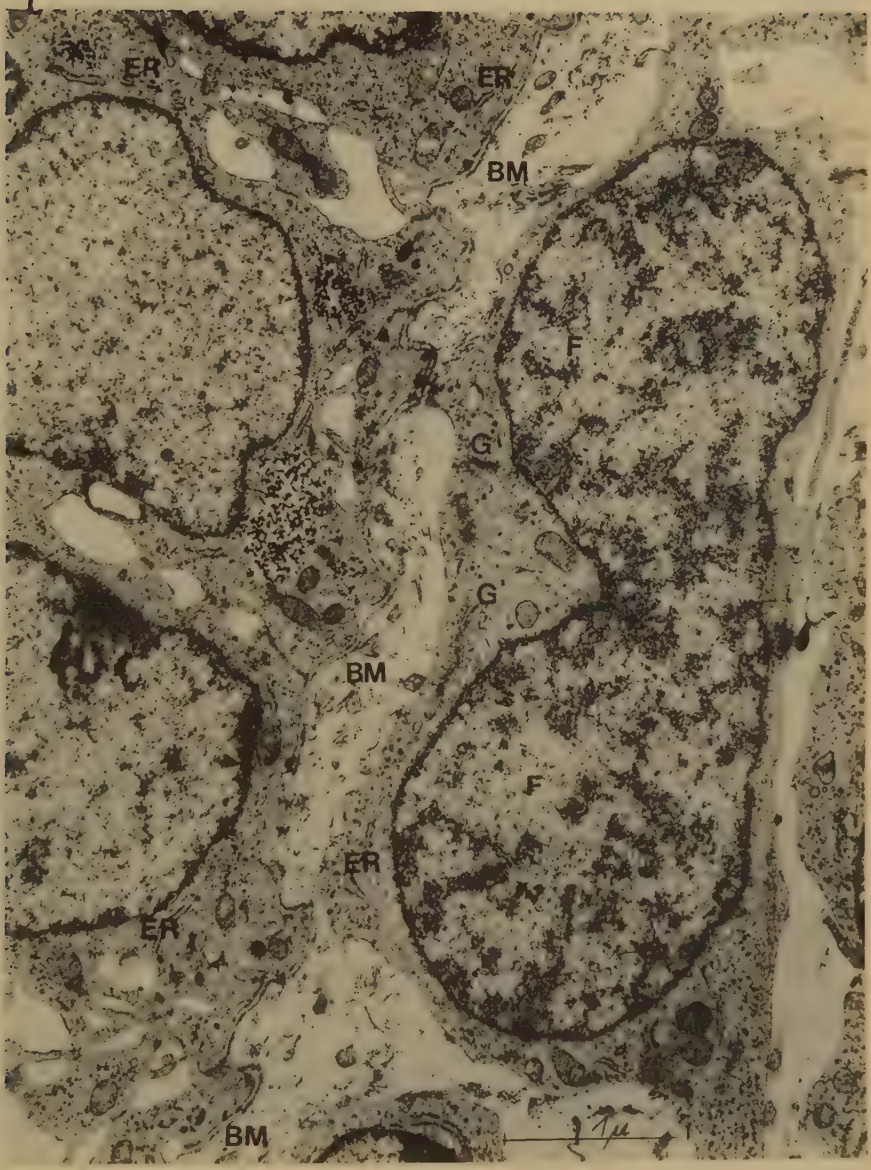

T
T
T
N
T
T
T

Oralmukosa Tag 18 :

Linke Bildhälfte : Strat. basale des Epithels mit Schläuchen des endoplasmatischen Reticulums (E.R.) und Glykogeneinlagerungen (X). Subepitheliale Basalmembran (B.M.) mit corialen Kollagenfibrillen.

Rechte Bildhälfte : Grosser Fibrblast (F) mit Golgi-Apparat (G) und rauhem endoplasmatischen Retikulum.

Vergr. 1 : 35000


ER
ER
BM
F
G
G
BM
F
ER
ER
BM
1 μ

4. Tag post partum :

Reifes , mehrschichtiges verhornendes Epithel (X). Keratohyalingranula (KHG) im strat. granulosum . Oberflächlich sich abschilfernde Hornlamellen (✳).

(M = Mesenchym)

Vergr. 1 : 7ooo

KHG
KHG
X
X
M

4. Tag post partum :

Reifes, mehrschichtiges verhornendes Epithel (✕).

Strat. basale mit schmalen, vielfach unterkammerten Interzellularräumen (ICR). Tonofilamente (⊤) und Keratohyalingranula (KHG) im strat. granulosum. (M = Mesenchym)

Vergr. 1 : 525o

KHG
KHG
KHG
T
ICP
M
2μ

Berlin, den 17.8.197o

Lebenslauf

Ich wurde am 29. Oktober 1944 in Pethau / Kreis Zittau als Sohn des Verwaltungsinspektors Herbert Stein geboren. Ich verbrachte meine gesamte Schulzeit in Berlin, wo ich am 26.2.1964 an der Goethe-Schule (Berlin-Lichterfelde) das Abitur bestand.
Im Sommersemester 1964 begann ich das Medizinstudium an der F.U.-Berlin, an der ich bis zum Studienabschluss mit Ausnahme des Wintersemesters 1967 / 68 (Med. Fak. Homburg / Saar) weiterstudierte.
Die naturwissenschaftliche (2.4.65) und ärztliche (23.3.67) Vorprüfung sowie die ärztliche Prüfung (8.8.7o) legte ich an der F.U.-Berlin jeweils mit der Note " Sehr gut" ab.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33